

Hexabromcyclododecan

Vorkommen, Verhalten und Biotransformation in ausgewählten Biota

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

im Fach Chemie

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I

der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Diplom-Lebensmittelchemikerin und
staatlich geprüfte Lebensmittelchemikerin
Susanne Esslinger

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin:
Prof. Dr. Jan-Hendrik Olbertz

Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I:
Prof. Stefan Hecht, Ph.D.

Gutachter: 1. Prof. Dr. Ulrich Panne
2. Prof. Dr. Irene Nehls

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Oktober 2013

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Mai 2007 bis September 2010 in der Abteilung „Analytische Chemie; Referenzmaterialien“ an der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) in Kooperation mit dem Institut für Analytische und Umweltchemie der Humboldt-Universität zu Berlin unter der Anleitung von

Prof. Dr. Ulrich Panne und Prof. Dr. Irene Nehls

angefertigt. Ihnen gilt mein besonderer Dank für die freundliche Aufnahme, die interessante Themenstellung, die Betreuung im Verlauf der Arbeit, die stete Diskussionsbereitschaft. Weiterhin danke ich für den mir gewährten Freiraum sowie die entgegengebrachte Geduld bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Außerdem möchte ich mich bei all jenen bedanken, die auf verschiedene Weise – direkt oder indirekt – zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere bei

- Dr. Roland Becker für die Unterstützung und die kritische Hinterfragung der Ergebnisse sowie die stets neuen Anregungen,
- Hannelore Weydig, Christian Jung und Matthias Proske für die herzliche Arbeitsatmosphäre und die tatkräftige Unterstützung bei den verschiedenen Einzelprojekten.
- Dr. Robert Köppen für seine Geduld, die immerwährende Diskussionsbereitschaft und moralische Unterstützung,
- Dr. Matthias Koch für die Bereitstellung von Räumlichkeiten und Laborgeräten sowie sein immer offenes Ohr für alle Belange,
- Dr. Franziska Emmerling für die Durchführung der Röntgeneinkristallstrukturanalysen,
- Dr. Wolfgang Pritzkow für die Messungen der Kohlenstoff- und Stickstoffisotopen,
- Erika Labsch und Angelika Witt für die Bestimmung der Feuchtegehalte,
- Dr. Wolfram Bremser für die Unterstützung im Rahmen der statistischen Berechnungen,
- Dr. Andreas Müller-Belecke und seinem Team vom Institut für Binnenfischerei, Dr. Christa Schröter-Kermani vom Umweltbundesamt sowie Dr. Marcus Weber und Olga Scharkoi vom Konrad-Zuse-Zentrum für Informationstechnik Berlin (ZIB) für die konstruktive und zielführende Zusammenarbeit im Rahmen der verschiedenen Projekte,
- meinen Mit-Doktoranden der Bürogemeinschaft 536 Sebastian Schmidt, Skadi Kull, Stefan Merkel, Bettina Mönch und Susanne Lischka für die anregenden Gespräche und Bereitschaft bei Problemen und Sorgen weiterzuhelfen.
- allen namentlich hier nicht erwähnten Kolleginnen und Kollegen der ehemaligen Fachgruppe I.2 (jetzige Fachbereiche 1.2, 1.7 und 1.0) der BAM für ihre herzliche Aufnahme, die immerwährende Hilfsbereitschaft und Unterstützung,
- Gunda und Bernd, die mich so liebevoll aufgenommen und tatkräftig unterstützt haben. Euch gebührt meine immerwährende Verbundenheit.

Mein innigster Dank gebührt meinen Eltern, die mir das Studium der Lebensmittelchemie ermöglichten und mir während der Anfertigung der Doktorarbeit immerzu moralisch unterstützend und liebevoll zur Seite standen. Danke für Eure Geduld!

Während der Anfertigung der Dissertation wurden Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit in folgenden Beiträgen vorab publiziert, zur Publikation angenommen bzw. eingereicht:

1. Esslinger, S.; Becker, R.; Müller-Belecke, A.; Jung, C. und Nehls, I. (2009): Bioisomerization of HBCD: Results of feeding experiments with pure γ -HBCD Enantiomers, *Organohalogen Compounds* (Band 71), Seite 487-492.
2. Weber, M.; Durmaz, V.; Becker, R. und Esslinger, S. (2009): Predictive identification of pentabromocyclododecane (PBCD) isomers with high binding affinity to hTTR, *Organohalogen Compounds* (Band 71), Seite 247-252.
3. Köppen, R.; Becker, R.; Esslinger, S. und Nehls, I. (2009): Hexabromocyclododecan in heimischen Süßwasserfischen, *Nachrichten aus der Chemie* (Band 57), Nr. 9, Seite 904-910.
4. Esslinger, S.; Becker, R.; Maul, R. und Nehls, I. (2010): Hexabromocyclododecan - Untersuchungen zum Phase I Metabolismus, *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung* (Band 22), Nr. 4, Seite 364.
5. Esslinger, S.; Köppen, R.; Becker, R. und Nehls, I. (2010): Enantiomerenspezifischer Vergleich von HBCD-Gehalten maritimer Lebewesen zweier norwegischer Fjorde, *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung* (Band 22), Nr. 4, Seite 364.
6. Esslinger, S.; Becker, R. und Nehls, I. (2010): HBCD isomers: Degradation rates and hydroxylated products from microsome incubation experiments, *Organohalogen Compounds* (Band 72), Seite 259-262.
7. Esslinger, S.; Becker, R.; Jung, C.; Schroeter-Kermani, C. und Nehls, I. (2010): Time courses of HBCD levels and enantiomeric signatures in herring gull eggs from the German coast, *Organohalogen Compounds* (Band 72), Seite 255-258.
8. Köppen, R.; Becker, R.; Esslinger, S. und Nehls, I. (2010): Enantiomer-specific analysis of hexabromocyclododecane in fish from Etnefjorden (Norway), *Chemosphere* (Band 80), Nr. 10, Seite 1241-1245.
9. Esslinger, S.; Becker, R.; Müller-Belecke, A.; Bremser, W.; Jung, C. und Nehls, I. (2010): HBCD stereoisomer pattern in mirror carps following dietary exposure to pure γ -HBCD Enantiomers, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Band 58), Nr. 17, Seite 9705-9710.
10. Scharkoi, O.; Esslinger, S.; Becker, R.; Weber, M. und Nehls, I. (2011): Phase I oxidation of α - and γ -hexabromocyclododecane by cytochrome P450 enzymes: Simulation of the stereoisomerism of hydroxylated metabolites, *Organohalogen Compounds* (Band 73), Seite 730-733.
11. Esslinger, S.; Becker, R.; Jung, C.; Schroeter-Kermani, C.; Bremser, W. und Nehls, I. (2011): Temporal trend (1988-2008) of hexabromocyclododecane enantiomers in herring gull eggs from the german coastal region, *Chemosphere* (Band 83), Nr. 2, Seite 161-167.
12. Esslinger, S.; Becker, R.; Maul, R. und Nehls, I. (2011): Hexabromocyclododecane enantiomers: microsomal degradation and patterns of hydroxylated metabolites, *Environmental Science & Technology* (Band 45), Nr. 9, Seite 3938-3944.
13. Scharkoi, O.; Esslinger, S.; Becker, R.; Weber, M. und Nehls, I.: Predicting sites of cytochrome P450-mediated hydroxylation applied to CYP3A4, *Molecular Simulation*, eingereicht.

Kurzzusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung des enantiomerenspezifischen Umweltverhaltens des polybromierten Flammschutzmittel Hexabromcyclododecan (HBCD). Neben dessen analytischer Bestimmung in diversen biotischen Matrices sollten mögliche Biotransformationsprozesse aufgeklärt und deren Abbauprodukte identifiziert werden.

Zu Beginn erfolgte daher die Optimierung eines enantiomerenspezifischen Analysenverfahrens für die Bestimmung von HBCD, einhergehend mit dessen Adaption auf eine größere Bandbreite biotischer Matrices und anschließender Validierung (u. a. Ermittlung von Nachweisgrenzen, Linearität, Richtigkeit, Präzision). Die errechneten mittleren Wiederfindungen in Hühnerei für die $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD-Enantiomere lagen im Bereich von 100-102 % und die Nachweisgrenzen zwischen 0,131 und 0,255 pg g^{-1} .

Erste Untersuchungen zur ubiquitären Verteilung von HBCD erfolgten im Rahmen eines Kooperationsprojektes mit dem Umweltbundesamt an Eiern der Silbermöwe. Die Probenahme erfolgte im Zeitraum von 1988-2008 auf drei Vogelschutzinseln in der Nord- und Ostsee durch die Umweltprobenbank des Bundes. In allen Fällen dominierte (\pm)- α -HBCD das Diastereomerenmuster, wobei eine bevorzugte Anreicherung des (-)- α -HBCDs festgestellt wurde. Weiterhin konnte ein zeitlicher Trend aller Enantiomeren-Gehalte mit einem Maximum im Jahr 2000 (75-107 ng g^{-1} im Fettanteil, lw) und anschließendem Absinken der Gehalte beobachtet werden. Die in einem norwegischen Fjord gefangenen marinen Spezies (verschiedene Fischarten, Muscheln und Schnecken) wurden analysiert, um die ermittelten HBCD-Gehalte anderen Literaturdaten gegenüberzustellen. Neben Gehalten von bis zu 48 ng g^{-1} lw konnten, abhängig von der Ernährungsweise der Spezies, signifikante enantiomerenspezifische Anreicherungen nachgewiesen werden. Die in diesen Studien ermittelten erweiterten Messunsicherheiten für die HBCD-Gehalte lagen im Bereich zwischen 3,1 und 46,7 % bzw. unter Einbeziehung der β - und γ -HBCD-Gehalte nahe der Bestimmungsgrenze zwischen 0,2-59,6 % ($k = 2,8$).

Zur Klärung der Frage einer Bioakkumulation sowie -isomerisierung der HBCD-Stereoisomere erfolgten in Kooperation mit dem Institut für Binnenfischerei e. V. Potsdam-Sacrow Langzeit-Fütterungsversuche an Spiegelkarpfen. Die Untersuchungen ergaben eine signifikante Akkumulation des jeweils gefütterten HBCD-Enantiomers, jedoch wurde die Hypothese der Bioisomerisierung im Organismus nicht bestätigt.

Ein weiterer Schwerpunkt lag in der Untersuchung der cytochromabhängigen enantiomerenspezifischen Biotransformation von HBCD im Rahmen des Fremdstoffmetabolismus an Lebermikrosomen diverser Spezies. Hierbei konnte gezeigt werden, dass HBCD dem Phase I-Metabolismus unterliegt und infolgedessen hydroxyliert wird. Dabei weist jedes HBCD-Enantiomer ein spezifisches Metabolitenmuster auf, was eine Zuordnung der hydroxylierten Verbindungen zum entsprechenden HBCD-Enantiomer erlaubt. Anhand von Zeitreihen, der Berechnung von Halbwertszeiten sowie Enantiomerenfraktionen konnte der Verdacht bezüglich eines enantiomerenspezifischen Metabolismus in Richtung einer Anreicherung von (-)- α - und (+)- γ -HBCD weiter bestätigt werden. Inkubationsansätze mit reinen Cytochrom-Isoformen sowie molekülmechanische Berechnungen in Kooperation mit dem Konrad-Zuse-Institut Berlin legen die Vermutung nahe, dass dem Cytochrom 3A4 eine Schlüsselrolle bei der Metabolisierung von HBCD zukommt.

Weiterhin ist Tetrabromcyclododecan ein in der Literatur beschriebenes HBCD-Abbauprodukt. Dessen Stereoisomere wurden synthetisiert und die absoluten Konfigurationen mittels Röntgeneinkristallstrukturanalyse bestimmt. Unter Verwendung einer speziell auf diese Analyten optimierten HPLC-MS/MS-Methode wurden diverse Biotaprobenn auf Vorkommen der Verbindung allerdings ohne positiven Befund untersucht.

Schlagwörter: [HBCD], [enantiomerenspezifische Bestimmung], [HPLC-MS/MS], [Bioisomerisierung], [Biotransformation], [mikrosomaler Metabolismus], [TBCD], [Hydroxy-HBCD]

Abstract

The main emphasis of this thesis was on the enantio-specific environmental behaviour of the polybrominated flame retardant hexabromocyclododecane (HBCD), including the investigation on contamination levels in various biota, possible biotransformation processes and products.

Initially, an enantio-specific analytical method for the determination of HBCD was optimised and adapted to a wider range of biotic matrices. Thereafter, a comprehensive validation (e. g., detection limits, accuracy, and precision) was performed. The calculated mean recoveries of the different enantiomeric internal standards ranged from 100 to 102 % and the limits of detection are in the range of 0.131 to 0.255 pg g⁻¹.

First investigations of the ubiquitous environmental distribution of HBCD were performed under a cooperative project with the Federal Environmental Agency using herring gull eggs from three different islands in the North and Baltic Sea, which were sampled over a period of 20 years (1988 to 2008) and subsequently stored at the Environmental Specimen Bank. In all cases (\pm)- α -HBCD was the predominant diastereomer. Significant deviations from the racemic mixture revealed a preferred enrichment of the first eluting (-)- α -HBCD. In addition, a temporal trend of HBCD levels with a common maximum over all three islands in 2000 (75-107 ng g⁻¹ lw) and a subsequent decay of the HBCD contents was observed.

Different marine species (several fish species, mussels and snails), caught in a Norwegian fjord were analysed to compare the obtained enantio-specific HBCD contents (up to 48 ng g⁻¹ lw) to literature data. Furthermore, in correlation to the feeding habits of investigated species significant enantio-specific enrichments of HBCD were determined. The corresponding expanded measurement uncertainties ranged in all studies between 3.1 and 46.7 % or with regard to the contents of β - and γ -HBCD near the limit of quantitation between 0.2-59.6 % ($k = 2.8$).

To clarify the issue of accumulation as well as bioisomerisation of HBCD stereoisomers, a long-term feeding study with mirror carps was performed in collaboration with the Institute of Inland Fisheries Potsdam-Sacrow. The results showed an accumulation of each initially fed HBCD enantiomer, but hypothesis of a bioisomerisation could not be confirmed.

Another important focus of this work was to study the cytochrome-dependent enantio-specific biotransformation of HBCD enantiomers in various species of liver microsomes. As a result of these investigations it was shown that HBCD is subject to phase I metabolism as many other lipophilic xenobiotics. In the course of this process, HBCD is metabolised mainly to mono- and dihydroxylated products, whereas each HBCD enantiomer results in a specific metabolite pattern allowing the allocation of the corresponding hydroxylated compounds. Investigation of time series as well as the calculation of half-lives and enantiomeric fractions, the hypothesis of an enantio-specific metabolism towards an enrichment of (-)- α - and (+)- γ -HBCD could be confirmed. Incubation mixtures with pure cytochrome isoforms, as well as molecular mechanic calculations, in cooperation with the Konrad-Zuse-Institute Berlin suggest that cytochrome 3A4 plays a key role in the biotransformation processes of HBCD.

Additionally, tetrabromocyclododecene, a HBCD degradation product, has been synthesised and the absolute configurations of the obtained isomers were determined by X-ray crystal structure analysis. After development of a suitable HPLC-MS/MS method, various biota samples were examined for occurrence of this compound without positive result.

Keywords: [HBCD], [enantio-specific determination], [HPLC-MS/MS], [bioisomerisation], [biotransformation], [microsomal metabolism], [TBCD], [hydroxy-HBCD]

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	i
Publikationsliste	ii
Kurzzusammenfassung	iii
Abstract	v
Inhaltsverzeichnis	vii
Abkürzungsverzeichnis	xi
Abbildungsverzeichnis	xvii
Tabellenverzeichnis	xxi
1 Einleitung und Zielsetzung	1
2 Theoretischer Teil	3
2.1 Flammenschutzmittel und ihre Wirkungsweise	3
2.2 Hexabromcyclododecan (HBCD)	5
2.2.1 Allgemeine Informationen über HBCD	5
2.2.2 Reinheit/Verunreinigung	5
2.2.3 Stereochemie	6
2.2.4 Physiko-chemische Eigenschaften	7
2.2.4.1 Schmelzbereiche	7
2.2.4.2 Siedepunkt, thermische Interkonvertierung und Zersetzung	7
2.2.4.3 Dichte, Octanol-Wasser-Koeffizient, Löslichkeiten	8
2.3 Herstellung und Vertrieb von HBCD	9
2.4 Verwendung von HBCD	10
2.4.1 Expandiertes und extrudiertes Polystyrol	10
2.4.2 Hochschlagfestes Polystyrol	11
2.4.3 Textilbeschichtungen	11
2.5 Rechtliche Regulatorien und Selbstverpflichtungen der Industrie	11
2.6 HBCD-Analysenverfahren	12
2.6.1 Probenahme	13
2.6.2 Probenvorbereitung	13
2.6.3 Extraktion	14
2.6.4 Extraktaufreinigung	15
2.6.5 Bestimmung des Fettgehaltes von Biotaprobe	16
2.6.6 Chromatographische Trennung und Detektion	16
2.6.6.1 Gaschromatographie	16

2.6.6.2	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und Kopplungstechniken	17
2.7	Freisetzung von HBCD bei der Produktion und der Verwendung - Theorie des globalen Stofftransportes	19
2.8	Vorkommen und Verteilung von HBCD in relevanten abiotischen und biotischen Matrices	21
2.8.1	Isomerenspezifisches Verteilungsmuster	21
2.8.2	Monitoringdaten von HBCD in Umweltkompartimenten und biotischen Matrices	24
2.8.2.1	Oberflächenwasser	24
2.8.2.2	Luft und Staub	24
2.8.2.3	Boden, Sediment und Klärschlamm	26
2.8.2.4	Wirbellose, Fische und marine Säugetiere	27
2.8.2.5	Vögel	30
2.8.2.6	Land-Säugetiere	31
2.8.3	Vorkommen von HBCD in Humanproben und Lebensmitteln	32
2.8.3.1	Humanproben	32
2.8.3.2	Lebensmittel	32
2.8.4	Chronologische Entwicklung der HBCD-Gehalte in abiotischen und biotischen Matrices	33
2.9	Toxische Effekte von HBCD	35
2.9.1	Akute Toxizität	35
2.9.2	Toxikokinetik, Metabolismus und Verteilung von HBCD im Organismus	35
2.9.3	Neurotoxikologische und endokrine Wirkung	39
2.9.4	Mutagenität und Kanzerogenität	40
2.9.5	Weitere toxikologische Untersuchungen	40
3	Experimenteller Teil	43
3.1	Lösungsmittel und Chemikalien	43
3.2	Vorbereitende Arbeiten für die HBCD-Analytik	44
3.3	Probenmaterialien	45
3.3.1	Silbermöweneier von der deutschen Küste	45
3.3.2	Marine Spezies des norwegischen Eikelandsfjordes	46
3.3.3	Fütterungsstudie	47
3.3.4	Fischlebermikrosomen	48
3.3.5	Hausinternes Referenzmaterial	48
3.4	Probenvorbereitung für die enantiomerenspezifische HBCD-Analytik in ausgewählten biotischen Matrices	48
3.4.1	Gefriertrocknung	48
3.4.2	Mahlung	49
3.4.3	Homogenisierung	49
3.5	Herstellung der Kalibrierlösungen	49

3.6	Probenaufarbeitung	49
3.6.1	Beschleunigte Lösungsmittelextraktion	50
3.6.2	Gelpermeationschromatographie (GPC)	50
3.6.3	Säulenchromatographische Aufreinigung der GPC-Eluate mittels Florisil®	51
3.6.4	Bestimmung des Fettgehaltes	51
3.7	Herstellung eines hausinternen Referenzmaterials	51
3.8	Untersuchung der Biointerkonvertierung anhand eines Fischfütterungsversuches	52
3.8.1	Herstellung des dotierten Futtermittels	52
3.8.1.1	Isolierung von (+)- und (-)- γ -HBCD mittels präparativer HPLC	52
3.8.1.2	Dotierung des Fischfutters mit (+)- bzw. (-)- γ -HBCD	52
3.8.2	Haltung der Versuchstiere und deren Fütterung mit HBCD	52
3.8.3	Probenahme	53
3.9	Untersuchungen zum Phase I- und Phase II-Metabolismus	53
3.9.1	Isolierung der hepatischen Fischmikrosomen	53
3.9.2	Charakterisierung der Lebermikrosomen	54
3.9.2.1	Bestimmung des Proteingehaltes nach Bradford	54
3.9.2.2	Bestimmung des Cytochromgehaltes mittels Differenzspektroskopie	55
3.9.3	Mikrosomale Inkubation von HBCD	55
3.9.3.1	Trennung der HBCD-Enantiomere mittels HPLC	55
3.9.3.2	Experimentelle Vorgehensweise zur Untersuchung des Phase I-Metabolismus	55
3.9.3.3	Ablauf der Phase II-Metabolismus-Untersuchungen	56
3.10	Analytik mittels HPLC-MS/MS	57
3.11	Qualitätssichernde Maßnahmen im Rahmen der HBCD-Analytik	60
3.12	Verwendete Analysenverfahren zur Charakterisierung der Biotaprobe	61
3.12.1	Ermittlung der Kohlenstoff- und Stickstoff-Isotopien	61
3.12.2	Bestimmung des Feuchtegehaltes mittels Karl-Fischer-Titration	62
3.13	Synthese von Tetrabromcyclododecen-Isomeren	63
3.14	Charakterisierung und Nachweis der synthetisierten TBCD-Isomere	64
3.14.1	Chromatographische Verfahren (GC-MS und HPLC-DAD)	64
3.14.2	Röntgeneinkristallstrukturanalyse	65
3.15	Theoretische Berechnungen der HBCD-Isomere an Cytochrom P450	65
4	Ergebnisse und Diskussion	69
4.1	Enantiomerenspezifische HBCD-Analytik mittels HPLC-MS/MS	69
4.2	Validierung des Analysenverfahrens	71
4.2.1	Selektivität	71
4.2.2	Linearität	72
4.2.3	Arbeitsbereich	73
4.2.4	Laborinterne Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze	74

4.2.5	Richtigkeit	75
4.2.6	Präzision	76
4.2.7	Messunsicherheit	77
4.3	Enantiomerenspezifische Bestimmung von HBCD in Möweneiern	79
4.3.1	Fett- und Feuchtegehalte	80
4.3.2	HBCD-Gehalte: Chirale Signaturen und zeitlicher Trend	81
4.3.3	Enantiomerenspezifische Anreicherung von HBCD	87
4.3.4	Korrelation der Stickstoff- und Kohlenstoff-Isotopie mit den HBCD-Gehalten	88
4.3.5	Vergleich der HBCD-Gehalte mit anderen Umweltkontaminanten	90
4.4	Enantiomerenspezifische Bestimmung von HBCD in marinen Spezies eines norwegischen Fjordes	91
4.4.1	Fett- und Feuchtegehalte	91
4.4.2	Ermittlung der HBCD-Enantiomeren-Gehalte	92
4.4.3	Chirale Signaturen der HBCD-Gehalte	94
4.4.4	Korrelation der $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte mit den jeweiligen HBCD-Gehalten	95
4.4.5	Statistische Korrelation der untersuchten Monitoringdaten	96
4.5	Untersuchungen zur enantiomerenspezifischen Akkumulation und Bioisomerisierung von HBCD mittels Fütterungsversuchen	99
4.5.1	Entwicklung der Fisch-Population	100
4.5.2	Bioakkumulation und Bioisomerisierung	102
4.6	Untersuchungen zum mikrosomalen Metabolismus von HBCD	106
4.6.1	Charakterisierung der Lebermikrosomen	107
4.6.1.1	Proteinbestimmung nach Bradford	107
4.6.1.2	Bestimmung des Cytochrom P450-Gehaltes	107
4.6.2	Untersuchung der enantiomerenspezifischen Abbaukinetiken von HBCD im Rahmen mikrosomaler Ansätze	108
4.6.3	Identifizierung und Charakterisierung von im Rahmen des mikrosomalen Abbaus gebildeten HBCD-Metaboliten	111
4.6.4	Nachweis hydroxylierter HBCD-Metabolite in Biota	118
4.6.5	Untersuchungen unter Verwendung weiterer Lebermikrosomen	120
4.6.6	Experimentelle und theoretische Untersuchungen der Phase I-Funktionalisierung an ausgewählten Cytochromen	125
4.7	Analytische Betrachtung von Tetrabromcyclododecen, einem potentiellen HBCD-Metabolit	131
5	Zusammenfassung und Ausblick	137
6	Literaturverzeichnis	141
7	Anhang	164
	Eidesstattliche Erklärung	215

Abkürzungsverzeichnis

Allgemein übliche, im DUDEN aufgeführte Abkürzungen werden an dieser Stelle nicht aufgeführt.

AA-APPI	<u>A</u> nion <u>A</u> ttachment <u>A</u> tmospheric <u>P</u> ressure <u>P</u> hotoionisation
AIR	<u>A</u> mbient <u>I</u> nhalable <u>R</u> eservoir = Umgebungsluft
AMAP	<u>A</u> rctic <u>M</u> onitoring and <u>A</u> ssessment <u>P</u> rogramme
ANOVA	<u>A</u> nalysis of <u>V</u> ariance = Varianzanalyse
APCI	<u>A</u> tmospheric <u>P</u> ressure <u>C</u> hemical <u>I</u> onisation
APPI	<u>A</u> tmospheric <u>P</u> ressure <u>P</u> hotoionisation
a.u.	<u>a</u> rbitrary <u>u</u> nits = willkürliche Einheiten
A.U.	<u>A</u> tomic <u>U</u> nits (1 A.U. = $4,3597438 \cdot 10^{-18}$ J)
amu	<u>a</u> tomic <u>m</u> ass <u>u</u> nit = atomare Masseneinheit
ASE®	<u>A</u> ccelerated <u>S</u> olvent <u>E</u> xtraction = beschleunigte Lösungsmittlextraktion
α	Trennungsfaktor
B _g	geographische Breite (Angabe in Grad [°], Minuten ['] und Sekunden ['])
BAM	<u>B</u> undesanstalt für <u>M</u> aterialforschung und -prüfung
BFR	<u>B</u> rominated <u>F</u> lame <u>R</u> etardants = bromierte Flammschutzmittel
Br·	<u>B</u> romradikal
BSA	<u>B</u> ovine <u>S</u> erum <u>A</u> lbumin
CAS	<u>C</u> hemical <u>A</u> bstracts <u>S</u> ervice
CDT	<u>C</u> yclododeca-1,5,9-trien
CI	<u>C</u> hemische <u>I</u> onisation
CO	Kohlenstoffmonoxid
CSCL	<u>C</u> hemical <u>S</u> ubstances <u>C</u> ontrol <u>L</u> aw
CYP	<u>C</u> ytochrom <u>P</u> 450
$\delta^{13}\text{C}$	Kohlenstoff-Isotopie
$\delta^{15}\text{N}$	Stickstoff-Isotopie
DAD	<u>D</u> iodenarray <u>D</u> etektor
DC	<u>D</u> ünnschichtchromatographie
DDD	<u>D</u> ichlordiphenyl <u>d</u> ichlorethan
DDE	<u>D</u> ichlordiphenyl <u>d</u> ichlorethen
DDK	<u>D</u> ynamischen <u>D</u> ifferenz <u>k</u> alorimetrie
DDT	<u>D</u> ichlordiphenyl <u>t</u> richlorethan
Deca-BDE	<u>D</u> ecabrom <u>d</u> iphenyl <u>e</u> ther
DFT	<u>D</u> ichte- <u>F</u> unktional- <u>T</u> heorie

DMSO	<u>D</u> imethylsulfoxid
DNA	<u>D</u> eoxyribo <u>n</u> ucleic <u>a</u> cid = Desoxyribonukleinsäure
DP	<u>D</u> ipolmoment
dw	<i>dry weight</i> = bezogen auf das Trockengewicht (Anteil ohne Wassergehalt)
E	<u>E</u> xtinktion
EA	<u>E</u> lementar <u>a</u> nalysator
ECHA	<u>E</u> uropäische <u>C</u> hemikalien <u>a</u> gentur
ECD	<u>E</u> lectron <u>C</u> apture <u>D</u> etector = Elektroneneinfangdetektor
EF	<i>enantiomeric fraction</i> = Enantiomerenfraktion
EF _α	Enantiomerenfraktion von α-HBCD
EF _β	Enantiomerenfraktion von β-HBCD
EF _γ	Enantiomerenfraktion von γ-HBCD
EI	<u>E</u> lektronenstoßionisation
EPS	<u>e</u> xpandiertes <u>P</u> olystyrol
ER	<i>enantiomeric ratio</i> = Enantiomerenverhältnis
ESI	<u>E</u> lectrospray <u>I</u> onisation
EU	<u>E</u> uropäische <u>U</u> nion
LFGB	<u>L</u> ebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und <u>F</u> uttermittelgesetz <u>b</u> uch
FSM	<u>F</u> lamm <u>s</u> chutz <u>m</u> ittel
g	Erdschwerebeschleunigung (g-Zahl bei Zentrifugen)
GC	<u>G</u> as <u>c</u> hromatographie
GC-ECD	Gaschromatographie mit Elektroneneinfangdetektor
GC-MS	Gaschromatographie mit massenselektivem Detektor (Massenspektrometer)
GPC	<u>G</u> el <u>p</u> ermeations <u>c</u> hromatographie
GZ	<u>G</u> ewichtszunahme
HBB	<u>H</u> exabrom <u>b</u> enzol
HBCD	1,2,5,6,9,10- <u>H</u> exabromcyclo <u>d</u> odecan
HBr	Bromwasserstoff
HCH	<u>H</u> exachlorcyclo <u>h</u> exan
HEPES	2-(4-(2- <u>H</u> ydroxyethyl)-1-piperazinyl)- <u>e</u> thansulfonsäure
HIPS	<i>High Impact Polystyrene</i> = hochschlagfestes Polystyrol
HMC	<u>H</u> ybrid- <u>M</u> onte- <u>C</u> arlo (-Simulation)
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> = Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HPLC-DAD	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie gekoppelt mit einem DAD
HPLC-MS	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie gekoppelt mit einem Massenspektrometer

ID	<u>I</u> nn <u>e</u> r <u>d</u> iameter = Innendurchmesser
IR	<u>I</u> nfrar <u>o</u> t
IRMS	<u>I</u> sotope <u>R</u> atio <u>M</u> ass <u>S</u> pectrometry = Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie
IVA	<u>I</u> sotopen <u>v</u> erdünnungs <u>a</u> nalyse
K	Grauer <u>K</u> nurrhahn
k	Abbaur <u>a</u> te
k'	Kapazitätsfakt <u>o</u> r
k _e	Erweiterungsfakt <u>o</u> r zur Berechnung der erweiterten Messunsicherheit
Klif	<u>K</u> lima- og <u>f</u> orurensningsdirekt <u>o</u> ratet = norwegische Agentur für Klima und Umweltverschmutzung
K _{ow}	n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient
L	<u>L</u> änge
lat.	Lateinisch
L _g	geographische Länge (Angabe in Grad [°], Minuten ['] und Sekunden ["])
LC ₅₀	<u>M</u> edian <u>L</u> ethal <u>C</u> oncentration = mittlere letale Dosis
LFg	Gefleckter <u>L</u> ippfisch (grün)
LFr	Gefleckter <u>L</u> ippfisch (rot)
LOAEL	<u>l</u> owest <u>o</u> bserved <u>a</u> dverse <u>e</u> ffect <u>l</u> evel = niedrigste Dosis mit beobachtbarer schädlicher Wirkung
lw	<u>l</u> ipid <u>w</u> eight = bezogen auf den Fettanteil
Ma	<u>M</u> akrele
m	Anzahl der Wiederholmessungen pro Aufarbeitung
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
MeOH	Methanol
Mm	<u>M</u> ies <u>m</u> uschel
MRM	<u>M</u> ultiple <u>R</u> eaction <u>M</u> onitoring
MS	<u>M</u> assenspektrometer
NADPH	<u>N</u> icotinamidadenin <u>d</u> inukleotid <u>p</u> hosphat-Tetranatriumsalz
EDTA-Na ₂	Ethylendiamintetraessigsäure Di-Natriumsalz
N	Bodenzahl
n	Anzahl der Aufarbeitungen
NCI	<u>N</u> egative <u>c</u> hemische <u>I</u> onisation
NMR	<u>N</u> uclear <u>M</u> agnetic <u>R</u> esonance = Kernspinresonanz
NOAEL	<u>n</u> o <u>o</u> bservable <u>a</u> dverse <u>e</u> ffect <u>l</u> evel = höchste Dosis ohne beobachtbare schädliche Wirkung
NOEL	<u>n</u> o <u>o</u> bservable <u>e</u> ffect <u>l</u> evel = höchste Dosis ohne beobachtbare Wirkung
Nr	<u>N</u> agelr <u>o</u> chen

OD	<i><u>O</u>uter <u>d</u>iameter</i> = Außendurchmesser
OLS	<i><u>O</u>rdinary <u>L</u>east <u>S</u>quares</i> = gewöhnliche Kleinstquadrate-Methode (Regression)
P	Wahrscheinlichkeit
PA	<i><u>P</u>oly<u>a</u>mid</i>
PAK	<i><u>P</u>olycyclische <u>a</u>romatische <u>K</u>ohlenwasserstoffe</i>
PBB	<i><u>P</u>oly<u>b</u>romierte <u>B</u>iphenyle</i>
PBCD	<i><u>P</u>enta<u>b</u>rom<u>c</u>yclo<u>d</u>odecen</i>
PBDD	<i><u>P</u>oly<u>b</u>romierte <u>D</u>ibenzo-<u>p</u>-<u>d</u>ioxine</i>
PBDE	<i><u>P</u>oly<u>b</u>romierte <u>D</u>iphenyl<u>e</u>ther</i>
PBDF	<i><u>P</u>oly<u>b</u>romierte <u>D</u>ibenzo-<u>p</u>-<u>f</u>urane</i>
PC	<i><u>P</u>rincipal <u>C</u>omponent</i> = Hauptkomponenten
PCA	<i><u>P</u>rincipal <u>C</u>omponent <u>A</u>nalysis</i> = Hauptkomponentenanalyse
PCB	<i><u>P</u>olychlorierte <u>B</u>iphenyle</i>
PDB	<i><u>P</u>rotein<u>d</u>aten<u>b</u>ank</i>
POP	<i><u>P</u>ersistent <u>O</u>rganic <u>P</u>ollutant</i> = persistenter organischer Schadstoff
PS	<i><u>P</u>oly<u>s</u>tyrol</i>
PTFE	<i><u>P</u>olytetrafluorethylen</i>
PVC	<i><u>P</u>olyvinylchlorid</i>
R	<i><u>R</u>esponse</i>
R·	organisches Radikal
R ²	Bestimmtheitsmaß
rel.	Relative
RF	<i><u>R</u>esponsefaktor</i>
RP	<i><u>R</u>eversed <u>P</u>hase</i> = Umkehrphase
RRLC®	<i>Rapid Resolution Liquid Chromatography</i>
R _s	Auflösung
s	Standardabweichung
SASA	<i><u>S</u>olvent <u>A</u>ccessible <u>S</u>urface <u>A</u>rea</i> = lösungsmittelzugängliche Oberfläche
SD	<i><u>S</u>pargue-<u>D</u>awley</i> (Rattenstamm)
SECURE	<i><u>S</u>elf <u>E</u>nforced <u>C</u>ontrol of <u>U</u>se to <u>R</u>educe <u>E</u>missions</i>
SIC	<i><u>S</u>electd <u>I</u>on <u>C</u>hromatogram</i>
SIM	<i><u>S</u>ingle <u>I</u>on <u>M</u>onitoring</i>
Sl	<i><u>S</u>eel<u>a</u>chs</i>
Smp.	<i><u>S</u>chmelzpunkt</i>
SPE	<i><u>S</u>olid <u>P</u>hase <u>E</u>xtraction</i> = Festphasenextraktion

SRM	<i><u>S</u>electe<u>d</u> <u>R</u>eaction <u>M</u>onitoring</i>
StS	Große <u>S</u> tand <u>s</u> chnecke
SWR	<u>s</u> pezifische <u>W</u> achstums <u>r</u> ate
T	<u>T</u> emperatur (°C)
t _{1/2}	Halbwertszeit
T3	Triiodthyronin
T4	Thyroxin
t _R	Retentionszeit
TBBPA	<u>T</u> etra <u>b</u> rom <u>b</u> isphenol <u>A</u>
TBCD	<u>T</u> etra <u>b</u> rom <u>c</u> yclo <u>d</u> odecen
TIS	<i><u>T</u>urbo <u>I</u>on <u>S</u>pray</i> = Turboionenspray
TOF	<i><u>T</u>ime of <u>f</u>light</i> = Flugzeit
TSQ	<i><u>T</u>riple <u>S</u>tage <u>Q</u>uadrupol</i> = Tripel-Quadrupol
U	Erweiterte Messunsicherheit
UBA	<u>U</u> mwelt <u>b</u> undes <u>a</u> mt
UDP	<u>U</u> ridin <u>d</u> iphosphat
UDPGA	<u>U</u> ridin-5'- <u>d</u> iphosphoglucuronsäure Trinatriumsalz
UGT	<u>U</u> DP- <u>G</u> lycosyltransferase
UHPLC	<i><u>U</u>ltra <u>H</u>igh <u>P</u>erformance <u>L</u>iquid <u>C</u>hromatography</i>
UPLC®	<i><u>U</u>ltra <u>P</u>erformance <u>L</u>iquid <u>C</u>hromatography</i>
Upm	<u>U</u> mdrehungen <u>p</u> ro <u>M</u> inute
V	<u>V</u> olumen
VECAP	<i><u>V</u>oluntary <u>E</u>missions <u>C</u>ontrol <u>A</u>ction <u>P</u>rogramme</i>
VEZ	<u>V</u> olumen der <u>E</u> lementarzelle
VF	<u>V</u> erdünnungs <u>f</u> aktor
VK	<u>V</u> ariations <u>k</u> oeffizient
VPDB	<i><u>V</u>ienna <u>P</u>ee<u>D</u>ee <u>B</u>elemnite</i> = Internationaler Vienna-PeeDee-Belemnite-Standard
W	<u>W</u> ittling
WR	relative <u>W</u> achstums <u>r</u> ate
ww	<i><u>w</u>et <u>w</u>eight</i> = bezogen auf das Frischgewicht
XPS	<u>e</u> xtrudiertes <u>P</u> oly <u>s</u> tyrol
Z	Formeleinheiten pro Elementarzelle
ZIB	Konrad- <u>Z</u> use- <u>I</u> nstitut <u>B</u> erlin
Zk	<u>Z</u> irren <u>k</u> rake
ZRM	<u>Z</u> ertifiziertes <u>R</u> eferenz <u>m</u> aterial

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** Grundstrukturen ausgewählter polybromierter Flammschutzmittel.
- Abbildung 2:** Grundstruktur des HBCDs.
- Abbildung 3:** Schematische Darstellung aller 16 Stereoisomere (sechs Enantiomerenpaare (1a/b, 2a/b, 3a/b, 7a/b, 9a/b, 10a/b), vier *meso*-Formen (4, 5, 6, 8)) des HBCDs (nach [14,15]).
- Abbildung 4:** Isomerisierungsschema der thermisch induzierten Interkonvertierung von HBCD mit Kennzeichnung der Stereochemie, Reaktionswege sowie Geschwindigkeitskonstanten (nach [24]).
- Abbildung 5:** Mittelwerte und Streuungen (Standardabweichung s) der prozentualen HBCD-Diastereomeren-Gehalte in verschiedenen Umweltkompartimenten, angeordnet nach steigendem α -HBCD-Anteil. Die Daten basieren auf den in Kapitel 7 aufgeführten Studien.
- Abbildung 6:** Prozentuale Verteilung der HBCD-Diastereomeren von in Binnengewässern lebenden Fried- und Raubfischen. Die Daten basieren auf den in Kapitel 7 aufgeführten Studien.
- Abbildung 7:** Mittlere HBCD-Kontaminationen in Hausstaub (pg m^{-3}) und Luft (ng g^{-1}) verschiedener europäischer Länder. Mit * gekennzeichnete Werte sind in ng m^{-3} angegeben.
- Abbildung 8:** Mittlere HBCD-Gehalte diverser europäischer Sedimentproben (ng g^{-1} bzw. $\mu\text{g m}^{-3}$ (*)).
- Abbildung 9:** Gemittelte HBCD-Gehalte (ng g^{-1} lw) mariner Säuger im europäischen Raum.
- Abbildung 10:** Globale Darstellung von mittleren HBCD-Kontaminationen mariner Säugetiere in ng g^{-1} lw. Mit * gekennzeichnete Werte sind in $\mu\text{g g}^{-1}$ lw angegeben.
- Abbildung 11:** HBCD-Gehaltsbereiche (ng g^{-1} lw) in Vogeleiern von sich von Insekten bzw. kleinen Säugetieren ernährenden Spezies. Bezeichnungen in Klammern beschreiben die geographische Angabe der Probenahmeregion. Die Daten basieren auf den in Kapitel 7 aufgeführten Studien.
- Abbildung 12:** HBCD-Gehaltsbereiche (ng g^{-1} lw) in Vogeleiern räuberisch lebender Spezies mit geographischer Angabe der Probenahmeregion. Die Daten basieren auf den in Kapitel 7 aufgeführten Studien.
- Abbildung 13:** Zeitlicher Verlauf der HBCD-Gehalte in Sedimentproben (A; [61]) sowie innerhalb eines Eisbohrkernes (B; [209]).
- Abbildung 14:** Zeitlicher Verlauf der HBCD-Kontamination im Fettgewebe Gewöhnlicher Schweinswale aus Küstengewässern der britischen Inseln [186].
- Abbildung 15:** Zeitlicher Verlauf der HBCD-Kontamination (ng g^{-1} lw) in Eiern von Elfenbeinmöwe (A; [191]), Wanderfalke (B; [212,220]), Silbermöwe (C; [211]), Papageitaucher (D; [211]), Dreizehenmöwe (E; [211]) sowie Eismöwe (F; [211]).
- Abbildung 16:** Zeitlicher Verlauf der HBCD-Kontamination (ng g^{-1} lw bzw. pmol g^{-1} lw) in Forellenfilet (A; [88]) und in Fettgewebe der Ringelrobbe (B; [221]) sowie in Humanmilch (C; [53,210]).

-
- Abbildung 17:** Probenahmegebiete der Silbermöweneier.
- Abbildung 18:** Fanggebiet im norwegischen Eikelfandsfjord.
- Abbildung 19:** Kreislaufanlage (800 L) zur Haltung der Versuchstiere.
- Abbildung 20:** Ablaufschema zum Phase I-Metabolismus von HBCD.
- Abbildung 21:** HPLC-MS/MS für die Analytik der Karpfenproben.
- Abbildung 22:** 1200er Agilent HPLC gekoppelt mit einem API 4000 QTRAP® (AB Sciex).
- Abbildung 23:** Shewhart-Regelkarte des hausinternen Referenzmaterials von (-)- α -HBCD (34 Datenpunkte der Vorperiode); UWG/OWG: untere und obere Warngrenze (Mittelwert \pm 2-fache Standardabweichung), UKG/OKG: untere und obere Kontrollgrenze (Mittelwert \pm 3-fache Standardabweichung).
- Abbildung 24:** Schematische Darstellung der TBCD-Synthesen durch Bromierung von *c,t,t*-CDT.
- Abbildung 25:** TIC (m/z 640,6 \rightarrow 79,0) einer Standardlösung von α -, β - und γ -HBCD im Verhältnis 1 : 1 : 1 nach Köppen *et al.* (API 4000™ [14,145] ; A) sowie mittels optimierter Messmethode (API 4000 QTRAP®; B).
- Abbildung 26:** Ausschnitt aus dem ESI-Full-Scan Massenspektrum von HBCD (m/z 480-840).
- Abbildung 27:** Kalibriergerade für (-)- α -HBCD im Bereich zwischen 0,006 und 202,35 ng g⁻¹ (inkl. Angabe der Standardabweichung s).
- Abbildung 28:** Kalibriergerade des Arbeitsbereiches für (-)- α -HBCD im Bereich zwischen 0,026 und 132,07 ng g⁻¹.
- Abbildung 29:** Kalibriergerade im Gehaltsbereich zwischen 2,05 und 20,5 pg g⁻¹ für (-)- α -HBCD zur Ermittlung von Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze.
- Abbildung 30:** Schematische Darstellung der Rückführbarkeits-Hierarchie bezüglich der Ermittlung der Richtigkeit eines quantitativen Analysenverfahrens.
- Abbildung 31:** Ursache-Wirkungsdiagramm für das HBCD-Analysenverfahren in Biotaproben mit den einzelnen Messunsicherheitskomponenten nach [14].
- Abbildung 32:** Totalionen-Chromatogramm eines aufgereinigten Silbermöwenei-Extraktes (Mellum; Probenahmejahr: 2000).
- Abbildung 33:** Zeitliche Entwicklung der enantiomerenspezifischen α -HBCD-Gehalte \pm U (ng g⁻¹ lw) in Silbermöweneiern der Inseln Trischen (A), Mellum (B) und Heuwiese (C).
- Abbildung 34:** Chronologische Entwicklung der HBCD-Gehalte in Wanderfalkeneiern aus Schweden zwischen 1974 und 2007 (A; [220]) sowie in Eiern der Trottellumme der Ostsee zwischen 1969 und 2001 (B; [190]). Die blauen Linien entsprechen hierbei einer Glättung der Daten über sieben (A) bzw. fünf (B) Analysenmittelwerten. Die rote Linie der Grafik B stellt die logarithmische Regression der Daten dar.
- Abbildung 35:** Plot von $\delta^{15}\text{N}$ (A) und $\delta^{13}\text{C}$ (B) in ‰ gegen das jeweilige Probenahmejahr mit erweiterter Messunsicherheit (U) für die Silbermöweneier der drei Nord- und Ostseeinseln Trischen, Mellum und Heuwiese (die Regression erfolgte über ein Polynom 1. Grades für die Daten von Trischen und Mellum).
- Abbildung 36:** Zeitlicher Verlauf der DDD-Gehalte (ng g⁻¹ ww) in Silbermöweneiern von drei Inseln der deutschen Küste inkl. der Standardabweichung (nach [338]).

- Abbildung 37:** TIC zweier aufgereinigter Muskelfleisch-Extrakte vom grauen Knurrhahn (A) und Nagelrochen (B) aus dem Eikelfandsfjord.
- Abbildung 38:** Auftragung der $\delta^{13}\text{C}$ - gegen die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte (‰) der jeweiligen marinen Spezies des norwegischen Eikelfandsfjordes mit Angabe der erweiterten Messunsicherheit. Die verwendeten Abkürzungen der Spezies sind in Tabelle 33 angegeben.
- Abbildung 39:** Graphische Korrelation der $\delta^{15}\text{N}$ -Daten (‰) mit den (-)- α -HBCD- (A) und (+)- γ -HBCD- (B) Gehalten ($\text{ng g}^{-1} \text{lw} \pm \text{U}$) der untersuchten marinen Spezies (Eikelfandsfjord, Norwegen). Die verwendeten Abkürzungen der Spezies sind in Tabelle 33 angegeben.
- Abbildung 40:** Scores-Plot der *Principal Component Analysis* (PCA) über die Isotopiedaten sowie die α -, β - und γ -HBCD-Gehalte ($\text{ng g}^{-1} \text{lw}$) mariner Spezies aus dem Eikelfandsfjord (Norwegen).
- Abbildung 41:** PCA-Loadings-Plot über die erste und zweite Hauptkomponente der Isotopiedaten und der HBCD-Gehalte ($\text{ng g}^{-1} \text{lw}$) mariner Spezies aus dem Eikelfandsfjord (Norwegen).
- Abbildung 42:** Zeitliche Entwicklung von Temperatur (A) und pH-Wert (B) des jeweiligen Beckenwassers der drei Untersuchungsgruppen (Kontroll-, (-)- γ - und (+)- γ -HBCD-Fütterungsgruppe).
- Abbildung 43:** TIC eines aufgereinigten Karpfenfilet-Extraktes der (-)- γ -HBCD-Fütterungsgruppe vom 107. Versuchstag.
- Abbildung 44:** Entwicklung der Absolutgehalte ($\pm \text{U}$) ausgewählter HBCD-Stereoisomere in aufgereinigten Muskelfleisch-Extrakten der Fütterungsgruppen während der Fütterungsperiode ($n = 4$).
- Abbildung 45:** Entwicklung der EF_α - und EF_γ -Werte der aufgereinigten Muskelfleisch-Extrakte der drei Spiegelkarpfen-Versuchsgruppen ($n = 4$; Unsicherheitsbalken entsprechen der erweiterten Messunsicherheit).
- Abbildung 46:** Differenz der EF_α -Werte der beiden Fütterungsgruppen (aufgereinigte Muskelfleisch-Extrakte).
- Abbildung 47:** Kalibrierkurve der BSA-Standardreihe zur Ermittlung des Proteingehaltes.
- Abbildung 48:** Zeitlicher Verlauf des Abbaus der α -, β -, und γ -HBCD-Enantiomere ($\pm \text{s}$) im Rahmen der Inkubationsansätze mit induzierten Rattenlebermikrosomen ($n = 2$, $m = 2$).
- Abbildung 49:** Abhängigkeit der Biotransformation vom (+)- und (-)- γ -HBCD-Gehalt ($\pm \text{s}$) nach 20minütiger Inkubation mit induzierten Rattenlebermikrosomen ($n = 2$, $m = 2$).
- Abbildung 50:** Verlauf der EF-Werte ($\pm \text{s}$) von α -, β - und γ -HBCD (Razemate) nach Inkubation über einen Zeitraum von 5 bis 50 min ($n = 2$, $m = 2$).
- Abbildung 51:** Full-Scan Massenspektrum (m/z 600-850) des Inkubationsansatzes von α -HBCD.
- Abbildung 52:** Veränderung der Ionenintensität von Monohydroxy-HBCD (SIM-Modus, m/z 656,7) bei Variation der Ionisierungsspannung der ESI-Quelle. Alle anderen MS-Parameter wurden bei dieser Messung konstant gehalten.
- Abbildung 53:** SRM-Chromatogramm der Monohydroxy-HBCD-Metabolite (m/z 656,7 \rightarrow 79,0) der reinen α - (A und B) und γ -HBCD-Enantiomere (C und D).

- Abbildung 54:** SRM-Chromatogramm eines äquimolaren Diastereomergemisches von HBCD (m/z 640,6 \rightarrow 79,0; (A)) und der daraus nach mikrosomaler Inkubation erhaltenen Lösung der Monohydroxy-HBCD-Metabolite (m/z 656,7 \rightarrow 79,0; B).
- Abbildung 55:** Entwicklung der Peakflächen (\pm s) der einzelnen α -Monohydroxy-HBCDs (Retentionszeit 9,06 min (A), 10,20 min (B) und 12,00 min (C)) im Verlauf der Inkubation mit induzierten Rattenlebermikrosomen ($n = 3$).
- Abbildung 56:** Massenspektrometrisches Isotopenmuster des deprotonierten Quasi-Moleküliions von Dihydroxy-HBCD (m/z 660-680).
- Abbildung 57:** TIC der resultierenden Dihydroxy-HBCD-Metabolite, ausgehend von (-)- α -(A), (+)- α - (B), (+)- γ - (C) und (-)- γ -HBCD (D) nach mikrosomaler Inkubation.
- Abbildung 58:** SRM-Chromatogramm (m/z 656,7 \rightarrow 79,0) der monohydroxylierten HBCD-Metabolite eines aufgereinigten Seelachsleber-Extraktes.
- Abbildung 59:** SRM-Chromatogramm von Monohydroxy-HBCDs (m/z 656,7 \rightarrow 79,0) nach mikrosomaler Inkubation von diastereomerenreinem α - (A), β - (B) und γ -HBCD (C) mit Forellenlebermikrosomen.
- Abbildung 60:** Isotopenverteilungsmuster eines potentiellen HBCD-Metaboliten nach Inkubation von γ -HBCD mit Humanlebermikrosomen.
- Abbildung 61:** Hypothetischer Reaktionsverlauf der Metabolisierung von γ -HBCD zu 2,5,6,9,10-Pentabrom-3,7-dioxododecandisäure (Summenformel: $C_{12}H_{13}Br_5O_6$) nach Inkubation mit Human- bzw. Lewis-Rattenlebermikrosomen.
- Abbildung 62:** Darstellung der im Rahmen von Docking-Experimenten simulierten Bindung von (-)- α -HBCD in der Bindungstasche des Cytochrom 3A4 (grau unterlegt).
- Abbildung 63:** SRM-Chromatogramm (m/z 656,7 \rightarrow 79,0) der monohydroxylierten HBCD-Metabolite, ausgehend von diastereomerenreinem α -, β - und γ -HBCD nach Inkubation mit dem Cytochrom 3A4.
- Abbildung 64:** C_2 -Symmetrie von (-)- α - und (-)- γ -HBCD.
- Abbildung 65:** Postulierte Strukturen der (+)- α -Monohydroxy-HBCD-Metabolite.
- Abbildung 66:** Schematische Darstellung der sechs möglichen Stereoisomere des TBCDs ausgehend von der Bromierung (zwei Äquivalente Brom) von 1Z,5E,9E-CDT.
- Abbildung 67:** Full-Scan Massenspektrum im Bereich von m/z 460-650 des synthetisierten TBCDs.
- Abbildung 68:** Bildung von 1Z,5S,6R,9S,10R-TBCD (blau) durch thermische Isomerisierung von 1Z,5S,6R,9R,10S-TBCD (rot) bei 140 °C unter Inertgas.
- Abbildung 69:** SRM-Chromatogramme und/oder Zuordnung der durch Röntgeneinkristallstruktur-analyse ermittelten absoluten Konfigurationen der vier TBCD-Isomere.
- Abbildung 70:** Veränderung der Ionenintensität von TBCD (SIM-Modus, m/z 480,8) bei ausschließlicher Variation der Ionisations-Spannung der ESI-Quelle.

Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1:** Mittels DDK ermittelte Schmelzpunkte der HBCD-Enantiomere (entnommen aus [23]).
- Tabelle 2:** Dichte, Dampfdruck und n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient ($\log K_{ow}$) von HBCD.
- Tabelle 3:** Löslichkeiten von HBCD in organischen Lösungsmitteln [28].
- Tabelle 4:** Verkauf und Verbrauch von HBCD in der EU [32,33].
- Tabelle 5:** Liste der verwendeten Substanzen mit Reinheitsangabe des Herstellers bzw. Vertreibers.
- Tabelle 6:** Probenahmejahr und Umfang der Silbermöwenei-Stichproben.
- Tabelle 7:** Zusammenstellung der in Norwegen gefangenen Salzwasserspezies inkl. metrischer Daten.
- Tabelle 8:** Zutaten und Nährwerte des Alleinfuttermittels DAN-EX 1750 gemäß den Herstellerangaben.
- Tabelle 9:** Kenndaten der für die Isolierung der Lebermikrosomen verwendeten Fischeart.
- Tabelle 10:** ASE®-Verfahrenskennzahlen der HBCD-Extraktion diverser Biotaprobe.
- Tabelle 11:** Methodenparameter zur enantiomerenspezifischen Isolierung von (+)- und (-)- γ -HBCD unter Verwendung eines präparativen HPLC-Systems.
- Tabelle 12:** Zusammensetzung des Mic II-Puffers.
- Tabelle 13:** Ablaufschema zur Untersuchung des Phase II-Metabolismus von HBCD.
- Tabelle 14:** HPLC-MS/MS-Parameter unter Verwendung der API 4000™.
- Tabelle 15:** HPLC-MS/MS-Parameter unter Verwendung der API 4000 QTRAP®.
- Tabelle 16:** MRM-Übergänge zur Identifizierung und Quantifizierung von HBCD.
- Tabelle 17:** Massenspektrometrische Parameter zur Analyse von Mono- und Dihydroxy-HBCD.
- Tabelle 18:** Methodenparameter zur Identifizierung der TBCD-Isomere mittels GC-MS und HPLC-DAD.
- Tabelle 19:** Mittels FIA optimierte MRM-Parameter der TBCD-Isomere (am 4000 QTRAP®-Massenspektrometer).
- Tabelle 20:** Ausgewählte Cytochrome und deren Beschreibung in der Proteindatenbank (PDB).
- Tabelle 21:** Kapazitäts- (k') und Trennungsfaktoren (α) sowie Auflösungen (R_s) für die chromatographische Trennung der HBCD-Enantiomere unter Verwendung von HPLC-Säulenkopplungen an dem API 4000™ und der API 4000 QTRAP®.
- Tabelle 22:** Gemittelte Responsefaktoren ($n = 10$) der HBCD-Enantiomere (Gehaltsniveau: 132 ng g^{-1}).
- Tabelle 23:** Wesentliche Kenndaten der linearen Regressionsanalyse (Anpassungstest nach Mandel [309], $P = 99 \%$) für die HBCD-Isomere.
- Tabelle 24:** Ermittelte Kenndaten der Regressionsanalyse für die HBCD-Enantiomere ($P = 99 \%$).
- Tabelle 25:** Ausgewählte Kenndaten der für die Berechnung von Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen gemäß DIN 32645 [311] und DIN ISO 11843-2 [312] zugrundeliegenden Kalibrierfunktionen und der resultierenden enantiomerenspezifischen Kenn-

größen ($P = 99\%$; in pg g^{-1} bzw. fg).

- Tabelle 26:** Gegenüberstellung der enantiomerenspezifischen HBCD-Gehalte (ng g^{-1}) des (dotierten) hausinternen Referenzmaterials und der unter Anwendung der IVA-HPLC-MS/MS erhaltenen Analysenergebnisse ($n = 6$, $m = 3$) jeweils mit Angabe der Standardabweichung s sowie Angabe der resultierenden prozentualen Wiederfindung.
- Tabelle 27:** Enantiomerenspezifische Kenndaten (%) der Wiederholpräzision und der Präzision unter Zwischenbedingungen (V_i) gemäß DIN ISO 5725 [313].
- Tabelle 28:** Beiträge der einzelnen Unsicherheitskomponenten zur kombinierten (u_c) sowie erweiterten Messunsicherheit (U , $k = 2,8$) des Analysenverfahrens in Prozent am Beispiel einer Möweneiprobe.
- Tabelle 29:** Wasser-, Fett- und Feuchtegehalte ($\text{Gew.}\% \pm s$) der von den Inseln Heuwiese, Trischen und Mellum stammenden Silbermöweneiproben.
- Tabelle 30:** HBCD-Isomeren-Gehalte ($\text{ng g}^{-1} \text{lw} \pm U$) von Silbermöweneiproben der Nord- und Ostseeinseln zwischen 1988-2008.
- Tabelle 31:** F-Werte und deren Signifikanz (p-Wert), basierend auf der einfaktoriellen ANOVA für die (-)-und (+)- α -HBCD-Gehalte in Möweneiproben bei Betrachtung der Probenahmejahre.
- Tabelle 32:** EF_α -Werte der Silbermöweneier ($\pm U$) der drei Standorte in Nord- und Ostsee.
- Tabelle 33:** Wasser-, Fett- und Feuchtegehalte ($\text{Gew.}\% \pm s$) vom untersuchten Lebergewebe und Muskelfleisch verschiedener mariner Spezies eines norwegischen Fjordes.
- Tabelle 34:** Mittlere Gehalte der HBCD-Isomere ($\text{ng g}^{-1} \text{lw} \pm U$) im Muskelfleisch bzw. Lebergewebe mariner Spezies des norwegischen Eikelfandsfjordes.
- Tabelle 35:** Werte der Enantiomerenfraktionen ($\pm U$) der marinen Spezies aus dem Eikelfandsfjord.
- Tabelle 36:** Mittlere Wasser- und Fettgehalte ($\text{Gew.}\% \pm s$) des Muskel- und Lebergewebes der untersuchten Spiegelkarpfen ($n = 7$).
- Tabelle 37:** Spezifische Wachstumsrate (SWR), relative Wachstumsrate (WR) und mittlere Gewichtszunahme (GZ) für die drei Spiegelkarpfen-Versuchsgruppen während der Fütterungsperiode.
- Tabelle 38:** Mittlere Proteingehalte ($\pm s$) der verwendeten Mikrosomen, bestimmt nach Bradford ($n = 3$; [279]).
- Tabelle 39:** Ermittelte CYP-Gehalte der verschiedenen verwendeten Lebermikrosomen ($\text{MW} \pm s$; $n = 3$).
- Tabelle 40:** Enantiomerenspezifische Geradengleichungen und Bestimmtheitsmaße R^2 aus der Bestimmung der jeweiligen Reaktionsordnungen.
- Tabelle 41:** Abbauraten (k) und Halbwertszeiten ($t_{1/2}$) der HBCD-Stereoisomere nach Inkubation mit induzierten Rattenlebermikrosomen.
- Tabelle 42:** Retentionszeit (t_R), Kapazitätsfaktor (k'), Trennfaktor (α), Auflösung (R_s) und theoretische Bodenzahl (N) für die Trennung der Monohydroxylierten HBCD-Metabolite in Kombination mit einer Zorbax XDB-C₁₈ und einer chiralen NUCLEODEX β -PM analytischen HPLC-Säule ($n = 5$, $m = 2$).
- Tabelle 43:** Positive Befunde von Hydroxy-HBCDs in ausgewählten Biotaprobe.
- Tabelle 44:** Nachweis von Monohydroxy-HBCDs im Rahmen der mikrosomalen Inkubation unter Verwendung verschiedener Lebermikrosomen sowie der HPLC-MS/MS (m/z

656,7 → 79,0).

- Tabelle 45:** Auftreten von Dihydroxy-HBCDs im Rahmen der Inkubation unter Verwendung unterschiedlicher Lebermikrosomen.
- Tabelle 46:** Semi-flexibles Docking der α - und γ -HBCD-Stereoisomere mit der aktiven Tasche der jeweiligen Cytochrome. Angaben in potentieller Energie (kJ mol^{-1}) als Summe der Lennard-Jones- und Coulomb-Potentiale.
- Tabelle 47:** Retentionszeiten (min) der Monohydroxy-HBCD-Metabolite nach Inkubation der enantiomerenreinen α - und γ -HBCD-Stereoisomere mit CYP3A4.
- Tabelle 48:** *Solvent accessible surface area*, SASA (\AA^2) der diastereotopen Wasserstoffatome der α - und γ -HBCD-Stereoisomere sowie der Dipolmomente (DP) in Debye der jeweiligen Monohydroxy-HBCDs.
- Tabelle 49:** Mittlere Energien (kJ mol^{-1}) zwischen den α - und γ -HBCD-Stereoisomeren und CYP3A4 mit unterschiedlichen Rotationen der HBCD-Liganden unter Berücksichtigung verschiedener Sauerstoff-Wasserstoff-Distanzen (d).
- Tabelle 50:** Ausgewählte Kristalldaten der synthetisierten TBCD-Stereoisomere.
- Tabelle 51:** Optimierte MS-Parameter von TBCD (m/z 480,8 → 80,8).
- Tabelle 52:** Retentionszeit (t_R), Kapazitätsfaktor (k'), Trennfaktor (α), Auflösung (R_s) und theoretische Bodenzahl (N) für die Enantiomere des (\pm)- α -TBCDs ($n = 1, m = 10$).
- Tabelle A1:** HBCD-Gehalte in Luft- und Staubproben.
- Tabelle A2:** HBCD-Gehalte in Sedimentproben.
- Tabelle A3:** HBCD-Gehalte in Boden, Wasser, Schlamm und sonstigen abiotischen Matrices.
- Tabelle A4:** HBCD-Gehalte in marinen Meeresfrüchten (in diversen Gewebearten).
- Tabelle A5:** HBCD-Gehalte in Süßwasserlebewesen (in diversen Gewebearten).
- Tabelle A6:** HBCD-Gehalte in marinen Fischen (in diversen Gewebearten).
- Tabelle A7:** HBCD-Gehalte in marinen Säugetieren (in diversen Gewebearten).
- Tabelle A8:** HBCD-Gehalte in Vögeln (in Eiern und anderem Gewebe).
- Tabelle A9:** HBCD-Gehalte in Land-Säugetieren (in diversen Gewebearten).
- Tabelle A10:** HBCD-Gehalte in Pflanzen.
- Tabelle A11:** HBCD-Gehalte in Humanproben.
- Tabelle A12:** HBCD-Gehalte in Fleisch und Fleischerzeugnissen.
- Tabelle A13:** HBCD-Gehalte in Fisch und Fischerzeugnissen.
- Tabelle A14:** HBCD-Gehalte in sonstigen Lebensmitteln tierischen Ursprungs.
- Tabelle A15:** HBCD-Gehalte in Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs.
- Tabelle B1** Kalibrierniveaus der nativen und $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD-Isomere (ng g^{-1}) zur Überprüfung der Linearität.
- Tabelle B2** Gehalte (ng g^{-1}) von nativen und $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD-Isomeren der Kalibrierlösungen zur Ermittlung des Arbeitsbereiches.
- Tabelle B3** $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der entfetteten Silbermöweneiprüfungen der Inseln Trischen, Mellum

und Heuwiese (bezogen auf die internationalen Vergleichsstandards VPDB bzw. AIR).

Tabelle B4 $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der entfetteten marinen Filetproben des Eikelandsfjordes (bezogen auf die internationalen Vergleichsstandards VPDB bzw. AIR).

Tabelle B5 Kristalldaten der von Smith *et al.* synthetisierten TBCD-Stereoisomere (nach [22]).

1 Einleitung und Zielsetzung

Polybromierte Flammenschutzmittel (PBFSM), eine Gruppe bromierter organischer Verbindungen, werden aufgrund ihrer physiko-chemischen Eigenschaften (bspw. Zersetzungstemperatur) in Polymeren eingesetzt, um deren Entflammbarkeit herabzusetzen und somit die Entstehung oder Ausbreitung eines Brandes zu verhindern bzw. zu verlangsamen. Ein besonderes Augenmerk liegt hierbei auf Kunststoffen, die in elektronischen Bauteilen, Isolierungsmaterialien, Textilien und Möbeln verwendet werden. Das 1,2,5,6,9,10-Hexabromcyclododecan (HBCD, Kapitel 2.2), ein cycloaliphatisches Flammenschutzmittel, wird hauptsächlich in expandiertem und extrudiertem Polystyrolschaum, in Styrol/Acrylnitril-Copolymeren sowie in hochschlagfestem Polystyrol eingesetzt und stellt mit einem weltweiten Jahresverbrauch von ca. 16.700 Tonnen das dritt wichtigste PBFSM nach Tetrabrombisphenol A und dem Decabromdiphenylether dar. HBCD liegt als homogene Dispersion in der Polymermatrix vor und gehört somit zu den additiven Flammenschutzmitteln. Schätzungsweise 80 % der flammgeschützten Polystyrolhartschäume enthalten zwischen 0,5 und 0,7 Gew.-% HBCD. In den restlichen 20 % liegt der HBCD-Anteil zwischen 2 und 3 %. Die großtechnische Herstellung von HBCD erfolgt durch Bromierung von *cis,trans,trans*-Cyclododeca-1,5,9-trien (*c,t,t*-CDT), wobei sechs Stereozentren an den Positionen 1, 2, 5, 6, 9 und 10 resultieren. Das so erhaltene HBCD weist eine Reinheit von >99 % auf und besteht aus den drei diastereomeren Enantiomerenpaaren (\pm)- α -(1-12 %), (\pm)- β -(10-13 %) und (\pm)- γ -HBCD (75-89 %).

Im Verlauf der Produktion, der Gebrauchsphase der Konsumgüter und während der Nachgebrauchsphase (z. B. Mülldeponie) kann HBCD in die Umwelt eingetragen werden, wobei sich die Verteilungen der HBCD-Diastereomere in den einzelnen Umweltkompartimenten deutlich unterscheiden. Während in Abiota wie Klärschlämmen, Sedimenten und Luft (\pm)- γ -HBCD überwiegt, ist in Biota (\pm)- α -HBCD das dominierende Diastereomer. Diese Diskrepanz zur Zusammensetzung des technischen Produktes deutet auf eine Bioisomerisierung von γ -HBCD in α -HBCD hin. Das konnte allerdings bisher nicht bewiesen werden, da die Anreicherung von α -HBCD in Biota auch durch die unterschiedliche Löslichkeit, die selektive Aufnahme bzw. Ausscheidung oder die Metabolisierung bestimmter Stereoisomere bedingt sein könnte.

Hinsichtlich der Toxizität bzw. Metabolisierung von HBCD liegen bislang keine ausreichenden Datensätze zu den einzelnen HBCD-Diastereomeren bzw. -Enantiomeren vor, so dass eine endgültige Abschätzung des toxikologischen Potentials nicht möglich ist. Viele Organismen besitzen verschiedene enzymatische Systeme, welche durch Funktionalisierungsreaktionen in Form von Oxidationen, Reduktionen oder Hydrolysen Xenobiotika metabolisieren. Im Zuge dessen wird die Umwandlung von lipophilen Stoffen in wasserlösliche Verbindungen ermöglicht und damit ihre Ausscheidung aus dem Organismus beschleunigt. Es ist durchaus denkbar, dass HBCD beispielsweise mit Hilfe des Cytochroms P450 oxidiert bzw. metabolisiert wird und so nierengängig ausgeschieden werden kann.

Ein Fokus der Arbeit liegt daher auf der Untersuchung potentieller Abbauprozesse im Rahmen der cytochromabhängigen Metabolisierung von HBCD sowie der Aufklärung von Metaboliten. Die Studie soll Aufschluss über die Reaktionskinetik sowie über enantiomerenspezifische Abbauprozesse geben. In einem zweiten Schritt sollen Abbauprodukte identifiziert werden, um nach Entwicklung eines geeigneten Hochleistungsflüssigchromatographie-Verfahrens, gekoppelt mit einer massenspektrometrischen Detektion (HPLC-MS/MS), diverse Biota-Matrizes auf das Vorkommen dieser Metabolite zu prüfen. Weitere potentielle Biotransformationsprodukte sind nach gründlicher Literaturrecherche zu eruieren, zu synthetisieren und zu charakterisieren. Anschließend sollen entsprechende Analysen- und Nachweisverfahren entwickelt und Untersuchungen an Biotaprobe durchgeführt werden.

Um die Möglichkeit der enantiomerenspezifischen Akkumulation sowie Bioisomerisierung von HBCD und gegebenenfalls die zugrunde liegenden Mechanismen aufklären zu können, sollen im Rahmen dieser Arbeit darüber hinaus Langzeit-Fütterungsversuche an Fischen, im Speziellen an Spiegelkarpfen (*Cyprinus carpio*), unter Verwendung von enantiomerenreinem HBCD durchgeführt werden.

Für die Trennung der HBCD-Diastereomere wie auch der -Enantiomere ist die Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) zu einem unverzichtbaren analytischen Werkzeug geworden. In Kombination mit der Selektivität und Spezifität der Tandem-Massenspektrometrie ist es möglich, schnelle Analysen von vielen verschiedenen Matrixproben bei gleichzeitig sehr hoher Nachweisempfindlichkeit für HBCD durchzuführen. Ein entwickeltes Analysenverfahren unter Verwendung der HPLC-MS/MS soll daher hinsichtlich der bestehenden Blindwertproblematik sowie durch den Einsatz von HPLC-Säulen mit kleineren Partikeldurchmessern optimiert werden. Mit dem Ziel neben der Analyse von Fisch auch die Untersuchung anderer Biota-Matrices zu ermöglichen, wurde darüber hinaus eine Anpassung der Probenaufarbeitung vorgenommen. Unter Verwendung dieses Analysenverfahrens sollen weiterführende Untersuchungen zur ubiquitären Verteilung und dem Umweltverhalten der HBCD-Enantiomere in diversen biotischen Matrices (u. a. diverse marine Spezies und Silbermöweneier) durchgeführt werden. Darüber hinaus soll die Analyse von Silbermöweneiern, gesammelt über eine Periode von 20 Jahren, Aufschluss über die zeitliche Entwicklung der HBCD-Belastung an der deutschen Nord- und Ostseeküste geben. Zur abschließenden Einordnung sowie Diskussion der erwarteten Ergebnisse soll im nachfolgenden Kapitel (Theoretischer Teil) erstmalig ein umfassender Überblick über den aktuellen Stand der Forschung im Bereich Analytik, Toxikologie und Umweltvorkommen von HBCD gegeben werden.

2 Theoretischer Teil

2.1 Flammschutzmittel und ihre Wirkungsweise

Im Jahr 2006 wurden von der internationalen Vereinigung des Feuerwehr- und Rettungsdienstes mehr als 32 Millionen Feuerwehreinsätze registriert. Davon waren 4,1 Millionen (12,8 %) mit Bränden verbunden, bei denen insgesamt 42.000 Menschen ihr Leben verloren [1]. Allein in Deutschland belief sich die Anzahl der Brände in diesem Zeitraum auf 187.000, wobei 424 Brandopfer zu beklagen waren. Aufgrund der durch den zunehmenden Einsatz von Kunststoffen gestiegenen Brandgefahr sind Untersuchungen im Bereich des Brandschutzes und weiterführende Entwicklungen auf dem Gebiet der flammgeschützten und flammhemmenden Materialien von großer Bedeutung.

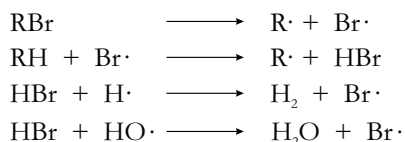
Um die Entflammbarkeit verschiedenster Materialien herabzusetzen bzw. die Ausbreitung eines Feuers zu verlangsamen, werden unterschiedliche chemische Verbindungen, die sogenannten Flammschutzmittel (FSM), eingesetzt. Entsprechend dem chemischen Element, das für die flammhemmende Wirkung verantwortlich ist, erfolgt eine Einteilung in fünf Hauptgruppen:

- mineralische (Al, Mg) FSM,
- organisch halogenierte (Br, Cl) FSM,
- organisch phosphorbasierte (P) FSM,
- anorganisch phosphorbasierte (P) FSM,
- stickstoffbasierte (N) FSM.

Die einzelnen Vertreter dieser FSM-Gruppen werden wiederum nach der Art ihrer Einarbeitung in das brandgefährdete Material unterschieden. Wird das FSM während der Polymerisation chemisch an das Polymer gebunden, so wird dieses als reaktives FSM bezeichnet. Aufgrund der kovalenten Bindung migrieren reaktive FSM nur schwer aus der Matrix, in die sie eingebracht wurden. Durch die damit verbundenen hohen Kosten finden diese allerdings nur begrenzt Einsatz. Eine zweite Möglichkeit der Einbringung von FSM besteht in der Verwendung sogenannter additiver FSM, die dem Ausgangsmaterial (Monomer) vor dessen Polymerisation lediglich beigemischt werden und daher relativ leicht bei der Verarbeitung, dem Gebrauch oder in der Nachgebrauchsphase in die Umwelt migrieren können.

Unabhängig von der Art der Einbringung entfalten FSM im Allgemeinen bereits in der Entstehungsphase eines Brandes ihre Wirkung, welche, abhängig von ihrer strukturellen Beschaffenheit, auf physikalischen oder chemischen Vorgängen in der Fest-, Flüssig- oder Gasphase beruht [2]. Mineralische FSM, wie das Aluminiumoxid, erschweren das Voranschreiten der Verbrennung des betroffenen Materials durch Absenken der Temperatur am Ort des Brandgeschehens infolge endothermer Prozesse (z. B. Freisetzung von Wasser). Eine weitere Möglichkeit zur Inhibierung eines Brandes liegt in der Ausbildung einer schützenden Schicht (fester Überzug bzw. gasförmiges Polster). Hierdurch erfolgt eine Isolation des brennbaren Materials, so dass der Wärmeaustausch über die Gasphase und somit die thermische Zersetzung der Polymermatrix unterbunden wird. Durch Zugabe von inerten Füllstoffen zum brennbaren Material, die zum einen zu einer Verringerung der brennbaren Anteile und zum anderen im Brandfall zu einer Freisetzung inerte Gase (z. B. N_2) führen, kann durch Verdünnung ebenfalls eine flammhemmende Wirkung erzielt werden.

Neben diesen auf physikalischen Prozessen basierenden FSM werden auch halogenierte FSM (bspw. bromierte Verbindungen) eingesetzt, deren flammhemmende Wirkung auf dem chemischen Prozess der Unterbrechung der stark exothermen Radikalkettenmechanismen in der Gasphase des Verbrennungsprozesses beruht. Die Wirkungsweise polybromierter FSM (PBFSM) beruht auf der Freisetzung von Brom- ($Br\cdot$) sowie organischen Radikalen ($R\cdot$) (Gleichung 1) infolge der homolytischen Bindungsspaltung der Brom-Kohlenstoff-Bindungen (C-Br) nach Erreichen der Zersetzungstemperatur.



Gleichung 1: Wesentliche PBFSM-Radikalreaktionen im Verlauf des Verbrennungsprozesses (nach [3]).

Die eigentliche Flammhemmung durch die PBFSM erfolgt in der Gasphase durch eine Wasserstoffabspaltung aus der Matrix (bspw. ein Polymer) unter Bildung von Bromwasserstoff (HBr). Durch Reaktion des Bromwasserstoffs mit den bei der pyrolytischen Zersetzung des Polymers entstehenden energiereichen Radikalen ($\text{H}\cdot$, $\text{HO}\cdot$) in der Gasphase werden diese durch die weniger reaktiven Bromradikale substituiert. Die Bromwasserstoffe wirken hierbei katalytisch, d. h. die Bromradikale sind in der Lage, erneut Wasserstoff aus dem Polymer abzuspalten und Bromwasserstoff zu bilden. Mit dem Entzug der reaktiven Radikale aus der Gasphase kommt es aufgrund einer Verminderung der Energiefreisetzung und der damit einhergehenden reduzierten Wärmerückkopplung auf die Polymermatrix zu einer Abkühlung, was zu einer Hemmung des Verbrennungsprozesses und im Idealfall zum Erlöschen des Brandes führt. Die Wirksamkeit der PBFSM hängt im Wesentlichen von der Freisetzung der Bromradikale und somit vom jeweiligen Bromierungsgrad ab. Darüber hinaus ist eine Abstimmung der Zersetzungstemperaturen von dem eingesetzten PBFSM und dem zu schützenden Polymer eine wesentliche Voraussetzung für eine effektive flammhemmende Wirkung. Da der gebildete Bromwasserstoff zusammen mit den Pyrolyseprodukten des Werkstoffs ein Gasgemisch bildet, kann der beschriebene Prozess nur starten, wenn Bromwasserstoff zur gleichen Zeit gebildet wird wie die Pyrolyseprodukte. Bei nicht aufeinander abgestimmten Systemen ist das PBFSM wirkungslos [4].

Global betrachtet, stellen die PBFSM aufgrund ihrer einfachen und kostengünstigen Herstellung in Verbindung mit ihrer hohen Effektivität die bedeutendste Untergruppe der halogenierten FSM dar. PBFSM werden überwiegend in der kunststofferzeugenden und -verarbeitenden Industrie verwendet, da ihre Zersetzungstemperaturen hinreichend mit denen der entsprechenden Werkstoffe übereinstimmen. Zu den industriell relevantesten PBFSM zählen u. a. Tetrabrombisphenol A (TBBPA), Hexabromcyclododecan (HBCD) sowie Decabromdiphenylether (Deca-BDE) (Abbildung 1; [5]). Als wichtige Vertreter der neuesten PBFSM-Generation seien darüber hinaus Decabromdiphenylethan (DBDPE), Tetrabromethylcyclohexan (TBECH) und Tetrabromcyclooctan (TBCO) zu nennen.

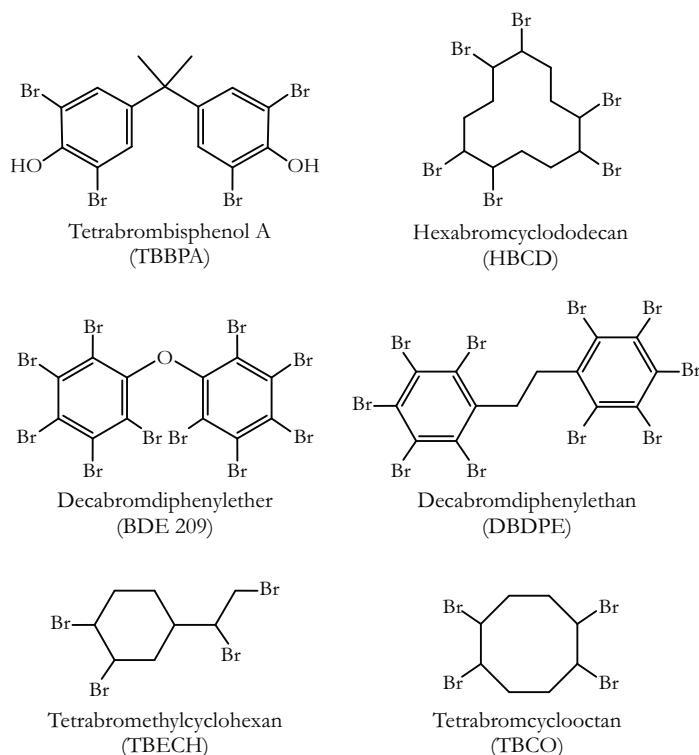


Abbildung 1: Grundstrukturen ausgewählter polybromierter Flammschutzmittel.

Die Effektivität der PBFSM kann durch die Zugabe von synergistisch wirkenden Metalloxiden erhöht werden. Der synergistische Effekt dieser Metalloxide, zu denen vornehmlich Antimonoxide gehören, die selbst keinerlei flammhemmende Eigenschaften aufweisen, beruht auf der schrittweisen Bromierung des Metalloxids bis zur vollständigen Ausbildung des entsprechenden Metallbromids (bspw. SbBr_3). Analog zu dem gebildeten Bromwasserstoff fungieren diese als Radikalfänger, indem sie die Rekombination der reaktiven Radikale bzw. eine Verminderung der Reaktand-Konzentration in der Gasphase induzieren.

Die Verwendung polybromierter Flammenschutzmittel birgt jedoch neben einem persistenten Umweltverhalten sowie der bioakkumulativen Eigenschaften dieser Verbindungen noch einen weiteren Nachteil. Im Brandfall bzw. bei unkontrollierter Entsorgung neigen die PBFSM leicht zur Bildung von polybromierten Dibenzo-p-dioxinen und -furanen (PBDD/PBDF). Einhergehend mit der strukturellen Analogie von bromierten und chlorierten Dioxinen, wobei zuletzt genannte bereits mehrmals in den Fokus des gesundheitlichen Verbraucherschutzes sowie des medialen Interesses rückte (zuletzt im Januar 2011 sowie April 2012 – mit Dioxinen belastete(s) Tierfutter bzw. Hühnereier), ist auch hier von einem erhöhten gesundheitlichen Risiko für den Menschen auszugehen [6].

2.2 Hexabromcyclododecan (HBCD)

2.2.1 Allgemeine Informationen über HBCD

Name: 1,2,5,6,9,10-Hexabromcyclododecan (HBCD, technisches Gemisch aus drei diastereomeren Enantiomerenpaaren (\pm)- α -, β - und γ -HBCD)

Summenformel: $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{Br}_6$

Molekulargewicht: $641,7 \text{ g mol}^{-1}$

CAS-Nummern:

Techn. Gemisch 3194-55-6

α -Diastereomer 134237-50-6

β -Diastereomer 134237-51-7

γ -Diastereomer 134237-52-8

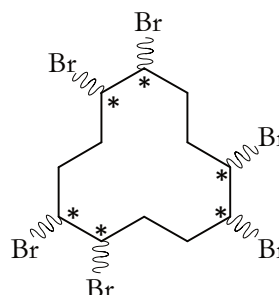


Abbildung 2: Grundstruktur des HBCDs.

Synonyme: Bromkal 73-6CD; Great Lakes CD-75TM; Great Lakes CD-75; Great Lakes CD-75XF; Great Lakes CD-75PC; Dead Sea Bromine Group Ground FR 1206 I-LM; Dead Sea Bromine Group Ground FR 1206 I-CM; Dead Sea Bromine Group Ground FR 1206 HT; Albemarle SAYTEX HP-900; Albemarle SAYTEX HP-900S; Albemarle SAYTEX HP-900SG

2.2.2 Reinheit/Verunreinigung

Die Synthese von technischem HBCD erfolgt über die Bromierung von *cis,trans,trans*-CDT (*c,t,t*-CDT), in deren Ergebnis die drei diastereomeren Enantiomerenpaare α -, β - und γ -HBCD insgesamt in einer Reinheit von 90-100 Gew.-% erhalten werden. Die resultierende Isomeren-Verteilung im technischen Gemisch ist hierbei abhängig vom Hersteller und kann zwischen 70 und 95 Gew.-% γ -HBCD und 5-30 Gew.-% α - und β -HBCD variieren [7]. Neben der Variation der Isomerenzusammensetzung von α -, β - und γ -HBCD können in Abhängigkeit von der Reinheit der für die Synthese eingesetzten Edukte sowie den jeweiligen Prozess-Bedingungen auch verschiedene Nebenprodukte entstehen. Da technisches *c,t,t*-CDT in Spuren mit *trans,trans,trans*-CDT (*t,t,t*-CDT) verunreinigt sein kann, entstehen bei der Bromierung auch kleinere Mengen zweier HBCD-*meso*-Formen (δ - und ϵ -HBCD) in Anteilen von bis zu 0,5 bzw. 0,3 Gew.-% [8]. Erst vor kurzem wurden zwei weitere Verunreinigungen, das Isobutoxypentabromcyclododecan sowie das Pentabromcyclododecanol, identifiziert, deren Entstehung auf den Einsatz von Isobutanol in der großtechnischen Synthese zurückgeführt werden kann [9-11]. Durch unvollständige

Bromierung von CDT können darüber hinaus niederbromierte Verbindungen wie die Isomere des Tetrabromcyclododecen (TBCD) und Pentabromcyclododecen (PBCD), in geringen Mengen im technischen Gemisch enthalten sein [12,13].

2.2.3 Stereochemie

Unter Berücksichtigung aller vier existierenden CDT-Isomere, können bei der Bromierung infolge der Bildung von sechs Stereozentren an den Positionen 1, 2, 5, 6, 9 und 10 insgesamt 16 HBCD-Stereoisomere gebildet werden (sechs diastereomere Enantiomerenpaare und vier *meso*-Formen) (Abbildung 3).

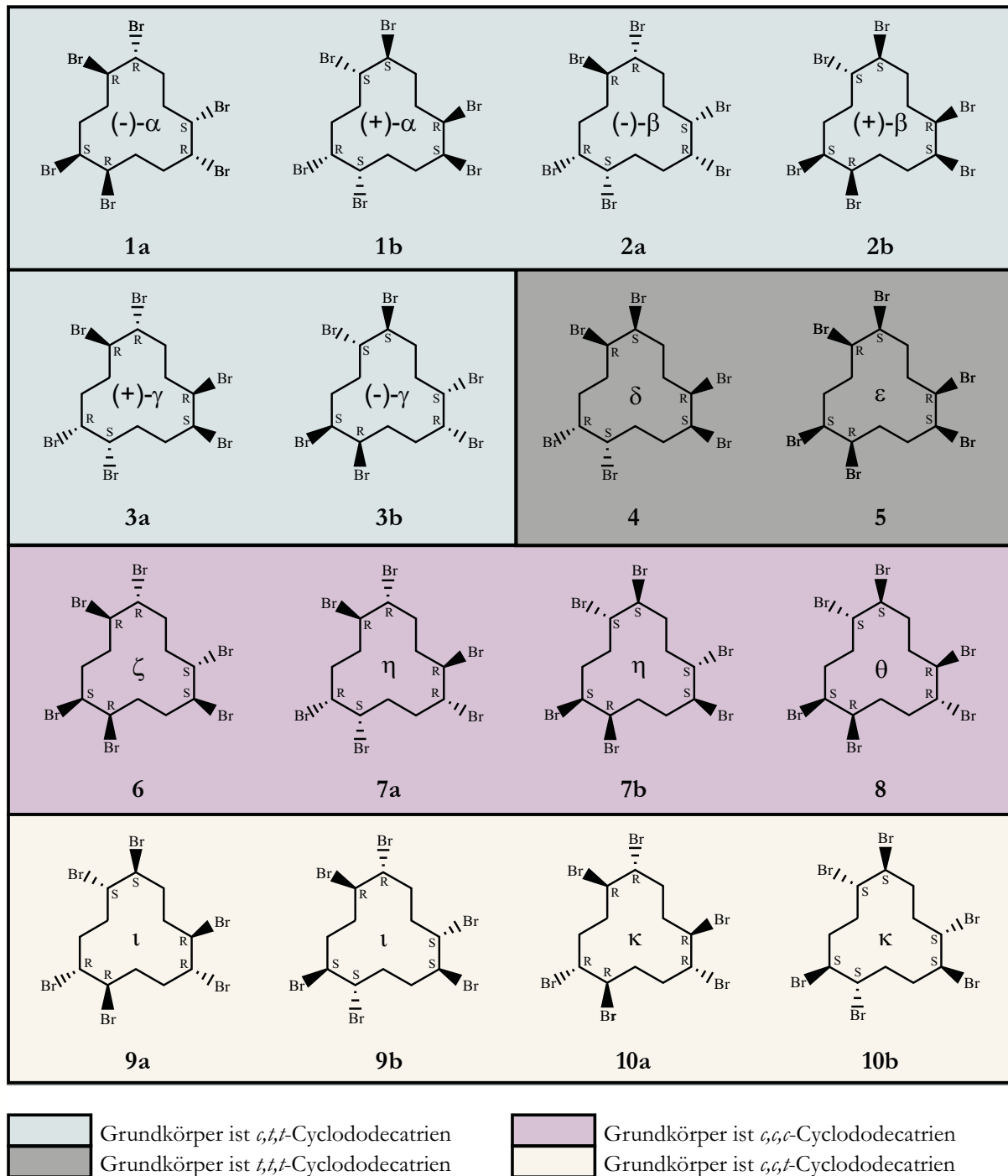


Abbildung 3: Schematische Darstellung aller 16 Stereoisomere (sechs Enantiomerenpaare (1a/b, 2a/b, 3a/b, 7a/b, 9a/b, 10a/b), vier *meso*-Formen (4, 5, 6, 8)) des HBCDs (nach [14,15]).

Von diesen 16 möglichen Verbindungen konnten bis heute acht im technischen Gemisch nachgewiesen werden [8]. Dabei handelt es sich um die drei Enantiomerenpaare (\pm)- α -, β - und γ -HBCD sowie die

beiden *meso*-Formen δ - und ϵ -HBCD. Durch Auftrennung der HBCD-Enantiomere mittels präparativer chiraler HPLC und nachfolgender Kristallisation war es im Jahr 2007 erstmals möglich, unter Verwendung der Röntgeneinkristallstrukturanalyse die optischen Drehwinkel, die absoluten Konfigurationen und somit die Elutionsreihenfolge auf einer chiralen permethylierten β -Cyclodextrinphase festzulegen [16-19]. Eine weiterführende ausführliche Charakterisierung der HBCD-Diastereomere erfolgte mit Hilfe der dynamischen Differenzkalorimetrie (DDK) sowie der Infrarot (IR)- und Kernspinresonanz (NMR)-Spektroskopie. Die NMR ermöglichte hierbei unter Berechnung der Kopplungskonstanten die Modellierung dreidimensionaler Strukturen und trug somit entscheidend zur Charakterisierung der einzelnen HBCD-Stereoisomere bei [20]. Auch δ -HBCD, eine Minorkomponente des technischen Gemisches, konnte durch Synthese aus *trans,trans,trans*-CDT hergestellt, kristallisiert und mit Hilfe der Röntgenkristallstrukturanalyse charakterisiert werden [18]. Des Weiteren ist auch hier das Verhalten auf einer chiralen Phase bekannt. Riddell *et al.* gelang die Isolierung und Charakterisierung (mittels ^1H -NMR Spektroskopie und Röntgeneinkristallstrukturanalyse) der verbleibenden sechs Diastereomere ϵ -HBCD aus *t,t,t*-CDT, ζ -, η - und θ -HBCD aus *c,c,t*-CDT sowie ι - und κ -HBCD aus *c,c,c*-CDT [21].

2.2.4 Physiko-chemische Eigenschaften

2.2.4.1 Schmelzbereiche

Technisches HBCD liegt bei 20 °C Umgebungstemperatur und einem Druck von 1.013 hPa als weiß bis grau-weißer kristalliner Feststoff vor, dessen (theoretischer) Bromierungsgrad 74,7 % beträgt. Die herstellungsbedingte Streuung der Schmelzbereiche umfasst im Falle der Rohprodukte den Temperaturbereich zwischen 172 und 184 °C sowie bei durch Kristallisation aufgereinigten Chargen zwischen 201 und 205 °C [19,22]. Die Spannweiten der resultierenden Schmelzbereiche sind auf variierende Anteile der einzelnen Diastereomere im jeweiligen Isomerengemisch zurückzuführen. Bei ihrer Betrachtung ist festzustellen, dass α - und β -HBCD sehr ähnliche Schmelzbereiche aufweisen (170-172 bzw. 169-172 °C), wohingegen der Schmelzbereich von γ -HBCD deutlich höher liegt (205-208 °C; [13]). Durch präparative Aufreinigung war es erstmals möglich, die Schmelzpunkte der reinen Enantiomere unter Verwendung der DDK zu bestimmen (Tabelle 1). Auf den ersten Blick scheinen diese Daten jedoch widersprüchlich zu sein. Vor allem γ -HBCD weist bei der enantiomerenspezifischen Untersuchung deutlich niedrigere Werte auf als bei der diastereomerenspezifischen Betrachtung. Die beobachteten Abweichungen können jedoch durch Unterschiede im molekularen Packungsmuster erklärt werden, wobei der Schmelzpunkt umso höher liegt, je dichter die Packung ist.

Tabelle 1: Mittels DDK ermittelte Schmelzpunkte der HBCD-Enantiomere (entnommen aus [23]).

HBCD-Enantiomer	Schmelzpunkt (°C)
(-)- α -HBCD	191,8
(+)- α -HBCD	190,7
(-)- β -HBCD	164,8
(+)- β -HBCD	164,3
(+)- γ -HBCD	157,8
(-)- γ -HBCD	157,1

2.2.4.2 Siedepunkt, thermische Interkonvertierung und Zersetzung

α -, β - und γ -HBCD unterliegen bei Temperaturen oberhalb von 160 °C einer thermisch induzierten intramolekularen Isomerisierung, die bei Erreichen einer Temperatur von 220 °C direkt in eine thermische Zersetzung der Moleküle übergeht [19]. Infolgedessen weisen die HBCD-Isomere keine Siedepunkte auf. Ab einer Temperatur von 190 °C ist die thermische Umlagerung der HBCD-Diastereomere innerhalb von 10 min nachweisbar, wobei, ungeachtet der einzelnen Diastereomere, nach 30-60 min stets das gleiche

Abbildung 4: Isomerisierungsschema der thermisch induzierten Interkonvertierung von HBCD mit Kennzeichnung der Stereochemie, Reaktionswege sowie Geschwindigkeitskonstanten (nach [24]).

Je nach Hersteller wird für das technische Gemisch des HBCDs eine spezifische Dichte von 2,24-2,38 g cm⁻³ [7] sowie ein Dampfdruck von 6,3 x 10⁻⁵ Pa [25] angegeben. Der n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient (K_{OW}) wurde bei 25,00 ± 0,05 °C mit 5,62 bestimmt [26]. Zur Ermittlung dieses

Wertes wurde ein technisches HBCD-Gemisch, zusammengesetzt aus 6,0 % α -HBCD, 8,5 % β -HBCD und 79,1 % γ -HBCD, verwendet. Die stereoisomerspezifischen $\log K_{OW}$ -Werte wurden ebenfalls bestimmt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Dichte, Dampfdruck und n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient ($\log K_{OW}$) von HBCD.

Parameter	Wert	Literatur
Dichte ($T = 20\text{ °C}$)	2,24-2,38 g cm ⁻³	[7]
Dampfdruck	6,3 x 10 ⁻⁵ Pa	[25]
$\log K_{OW}$	5,62 (technisches Gemisch)	[26]
	5,07 \pm 0,09 (α -HBCD)	[27]
	5,12 \pm 0,09 (β -HBCD)	[27]
	5,47 \pm 0,10 (γ -HBCD)	[27]
Henry Konstante	0,75 Pa x m ³ mol ⁻¹	[7]

Die Wasserlöslichkeit von technischem HBCD mit einer Zusammensetzung von 8 % α -HBCD, 5,37 % β -HBCD und 86,63 % γ -HBCD ist mit einem Wert von 65,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ sehr gering. Die diastereomeren-spezifischen Löslichkeiten betragen für Wasser 48,8 (α -HBCD), 14,7 (β -HBCD) bzw. 2,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (γ -HBCD) [26]. Weitere Löslichkeitsangaben für technisches HBCD sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3: Löslichkeiten von HBCD in organischen Lösungsmitteln [28].

Lösungsmittel	Löslichkeit bei 25 °C (g 100 g ⁻¹ Lösungsmittel)
Aceton	8,6-9,0
Chlorbenzol	2,8
Cyclopentan	0,05
Dibrommethan	3,6
Dimethylformamid	33,9
Isopentan	0,01
Methanol	<0,01-1
Methylchlorid	2-3
Methylethylketon	12
n-Pentan	0,01
Styrol	8-11
Toluol	5-7,5

2.3 Herstellung und Vertrieb von HBCD

Die industrielle HBCD-Produktion erfolgt in einem einstufigen Prozess, wobei elementares Brom bei Temperaturen zwischen 20 und 70 °C in einem geschlossenen System mit *c,t,t*-CDT unter Verwendung von verschiedenen Lösungsmitteln (u. a. Isobutanol) umgesetzt wird. Die erhaltene Suspension wird anschließend filtriert, getrocknet und bis zur Abpackung in Silos gelagert [29]. Für verschiedene Anwendungsbereiche wie z. B. für die Verwendung in Textilbeschichtungen, ist für den Produktionsprozess dieser Werkstoffe eine entsprechend kleine Partikelgröße des einzubringenden HBCDs unabdingbar. Aus diesem Grund wird ein Teil der Jahresproduktion durch Mahlen den entsprechenden Applikationsanforderungen angepasst.

Nachdem 1997 eine Produktionsstätte in Deutschland und 2003 eine weitere in England geschlossen wurde, konzentriert sich die Herstellung von HBCD im europäischen Raum auf einen Standort in den Niederlanden [30]. Global betrachtet, befinden sich weitere Produktionsstätten vornehmlich u. a. in den USA und Japan [31]. Verglichen mit anderen PBFSM wie Deca-BDE (3.224 t) und TBBPA (7.030 t), stellt

HBCD mit einem europaweiten Marktanteil von 47 % im Jahr 2008 das meist verkaufte polybromierte Flammenschutzmittel in der EU dar [32]. Der Verkauf von HBCD in die einzelnen EU-Länder stieg im Zeitraum von 2003-2007 um etwa 18 % (Tabelle 4).

Tabelle 4: Verkauf und Verbrauch von HBCD in der EU [32,33].

Jahr	Verkauf in EU-Länder (t)	Geschätzter Verbrauch in der EU (t)
2003	9.448	9.600
2004	10.123	9.750
2005	10.622	11.000
2006	10.075	11.580
2007	11.186	11.000
2008	8.913	keine Angaben

Im Jahr 2008 war hingegen ein deutlicher Einbruch der Verkaufszahlen zu verzeichnen (-20,3 %). Als mögliche Ursache hierfür könnte ein Beschluss der skandinavischen Länder zur Reduzierung des Einsatzes von HBCD angesehen werden. Da bis zum jetzigen Zeitpunkt keine aktuellen Zahlen für die Jahre 2009-2012 vorliegen, kann nicht eindeutig geklärt werden, ob es sich im Jahr 2008 nur um eine kurzfristige Abnahme handelt oder etwaige Minimierungskonzepte zu greifen beginnen.

2.4 Verwendung von HBCD

HBCD findet ausschließlich als additives FSM in vier verschiedenen Produktgruppen Einsatz:

- expandiertes Polystyrol (EPS),
- extrudiertes Polystyrol (XPS),
- hochschlagfestes Polystyrol (HIPS),
- Polymerdispersionen für die Beschichtung von Textilien.

Das Haupteinsatzgebiet liegt hierbei in den vorwiegend zur Wärmedämmung eingesetzten Polymeren EPS und XPS. Die relativen Einsatzmengen von HBCD in hochschlagfestem Polystyrol sowie in Polymerdispersionen liegen unterhalb von 10 % [7].

2.4.1 Expandiertes und extrudiertes Polystyrol

Mit HBCD versetztes EPS wird überwiegend in Wärmedämmplatten, Autokindersitzen sowie als Verpackungsmaterial verwendet. Die Herstellung erfolgt aus Styrol, wobei n-Pentan bzw. i-Pentan als Treibmittel zum Einsatz kommen. Zusätzlich werden eine Reihe von Zusatz- und Hilfsstoffen ebenfalls im Vorfeld der Polymerisation zugegeben. Bei der Herstellung von EPS wird das HBCD-Pulver bei niedrigen Temperaturen mit dem Styrol vorsichtig vermengt, um eine gleichmäßige Verteilung des HBCDs im Endprodukt zu erreichen. Die Herstellung von EPS-Hartschaum erfolgt durch Suspensionspolymerisation von Styrol in den drei Hauptschritten: Vorschäumung (mit Wasserdampf bei 90 °C), Zwischenlagerung (zur Erhöhung der Stabilität der vorgeschäumten Perlen) und Ausschäumung (mit Wasserdampf bei 120 °C) [34]. Nach einer abschließenden Entwässerung der erhaltenen Suspension erfolgt die Trocknung und Siebung der EPS-Perlen.

Zur Herstellung von XPS wird treibmittelfreies Polystyrolgranulat mit HBCD versetzt, in einem Extruder aufgeschmolzen ($T \geq 200$ °C), mit einem Treibmittel (meist Kohlenstoffdioxid) homogen vermischt und anschließend über eine Breitschlitzdüse aufgeschäumt. Der im Endprodukt resultierende HBCD-Gehalt beträgt durchschnittlich 2-3 Gew.-% [35]. HBCD-haltiges XPS wird zumeist in Form von Verbundplatten zum überwiegenden Teil für die nachfolgenden Dämmaufgaben eingesetzt:

- Isolierung von Kältebrücken,

- Kerndämmung,
- Kelleraußenwände und Fundament,
- Umkehrdächer und Decken.

Untersuchungen verschiedener XPS-Dämmplatten ergaben HBCD-Gehalte von bis zu 2,3 Gew.-% (Tabelle A3, Kapitel 7), wobei das α -Diastereomer mit einem Anteil von etwa 70 Gew.-% die Isomerenzusammensetzung dominierte. Die Dominanz von α -HBCD deutet auf eine thermische Isomerisierung des technischen HBCD-Gemisches im Verlauf der Aufschmelzung und Aufschäumung des Polystyrol-Treibmittelgemisches während der XPS-Produktion hin [36].

2.4.2 Hochschlagfestes Polystyrol

Hochschlagfestes Polystyrol wird durch die Vermischung von Polystyrol mit bis zu sechs Prozent eines Butadienkautschuks hergestellt. Im ersten Herstellungsschritt entsteht ein HIPS-Granulat, welches nachfolgend durch diverse Extruder-Techniken in die gewünschte Form gebracht wird. Die meisten mit HBCD versehenen Produkte aus HIPS werden im elektrischen und elektronischen Sektor wie bspw. im Multimediabereich, in Stromverteilungskästen oder in der Verkleidung von Kühlschränken, verwendet. Kajiwara *et al.* untersuchten Gehäuse u. a. von Fernsehgeräten sowie Notebook PCs, wobei diese mit HBCD-Gehalten von bis zu 680 ng g⁻¹ im Vergleich zu XPS nur relativ geringe Gehalte aufwiesen [36].

2.4.3 Textilbeschichtungen

In verschiedenen auf Wasser basierenden Polymer-Dispersionen wie Latex oder Acryl, werden feingemahlene HBCD-Partikel sowie weitere Zusatzstoffe (bspw. Synergisten (Sb₂O₃)) eingebracht, um mit diesen anschließend Textilien zu beschichten. Die Textilien werden im Anschluss bei Temperaturen zwischen 140 und 180 °C getrocknet. Die Einsatzgebiete der so behandelten Textilien erstrecken sich von gepolsterten Möbelstücken, über Vorhänge, Wandverkleidungen, Inlettstoffen von Matratzen bis hin zu Innenraumverkleidungen in der Automobilindustrie [37]. Untersuchungen von auf diese Art beschichteten Vorhängen ergaben HBCD-Gehalte von bis zu 180 µg g⁻¹ (Tabelle A3; [36]). Im Gegensatz zu Dämmplatten (Kapitel 2.4.1) stellt hier γ -HBCD das dominierende Diastereomer dar. Es ist daher davon auszugehen, dass bei dieser Vorgehensweise die Trocknungstemperaturen bzw. -zeiten nicht ausreichen, um eine thermische Isomerisierung zu induzieren.

2.5 Rechtliche Regulatorien und Selbstverpflichtungen der Industrie

Gemäß der Europäischen Norm DIN EN 13163: 2009-02 hat EPS-Hartstoffschaum, welcher als Dämmstoff in Gebäudebereichen wie Dach, Wand, Decke und Keller eingesetzt wird, den Anforderungen der nach DIN 4102-1 definierten Baustoffklasse B1 zu entsprechen [38]. Hierbei handelt es sich um eine Kategorisierung der Baustoffe bezüglich ihres Brandverhaltens. Die Baustoffklasse B1 beschreibt gemäß DIN 4102-1 schwer entflammbare Baustoffe. Da gerade im Baustoffbereich noch keine adäquaten Alternativen bekannt sind, findet hier überwiegend HBCD mit Gehalten zwischen 0,4 und 8 Gew.-% Einsatz. Auch für andere Anwendungsbereiche wie Büros, Hotels, Krankenhäuser sowie den Privatsektor bestehen ähnliche Vorschriften, die den Einsatz geeigneter Flammenschutzmittel unabdingbar machen. Allerdings bestehen derzeit für HBCD keine gesetzlichen Regelungen, weder für Produktion und Gebrauch noch hinsichtlich der erlaubten Höchstmengen in Produkten und Erzeugnissen gemäß LFGB (Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch; [39]).

Die 2007 in Kraft getretene EU-Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 (REACH-Verordnung) regelt die Zuweisung der Verantwortlichkeit von den Behörden auf die Industrie für die Beurteilung von Risiken im Zusammenhang mit der Verwendung von Chemikalien [40]. Gemäß Artikel 33 Abs. 1 der REACH-Verordnung besteht für den Hersteller eine Informationspflicht gegenüber dem Kunden über das Vorhandensein bestimmter Stoffe in ihren Produkten ab einem Gehalt von >0,1 %. Die in der REACH-Verordnung genannten Stoffe werden regelmäßig aktualisiert und von der Europäischen Chemikalien-

agentur (ECHA) veröffentlicht. Seit dem 17. Februar 2011 ist im Anhang XIV auch HBCD als Summenparameter aufgeführt.

Aufgrund seiner Persistenz und starken Tendenz zur Bioakkumulation steht die Risikoabschätzung bzw. -einstufung von HBCD im Fokus verschiedener nationaler sowie internationaler Organisationen/ Institutionen. So wurde HBCD vom japanischen *Chemical Substances Control Law* als potentiell *Persistent Organic Pollutant* (POP) in die Stufe "Typ I Monitoring" eingeordnet. POPs sind auf Kohlenstoff basierende organisch-chemische Verbindungen, die aufgrund ihrer physiko-chemischen Eigenschaften, dem ubiquitären Vorkommen, der Persistenz in Verbindung mit einem globalen Stofftransport, der Akkumulation im Fettgewebe sowie der Toxizität gegenüber Mensch und Tier ein besonderes Gefährdungspotential besitzen [41]. Seit 2009 ist HBCD für die Aufnahme in die Liste der aktuell 21 POPs im Rahmen der Stockholm-Konvention nominiert. In diesem Kontext wird u. a. in Australien derzeit eine umfassende Bewertung durchgeführt [30]. Darüber hinaus entwickelten und veröffentlichten die Vereinten Nationen einen Aktionsplan für HBCD mit der Absicht, Maßnahmen im Rahmen des *Toxic Substances Control Act* (US-amerikanisches Gefahrstoff-Überwachungsgesetz) hinsichtlich der Herstellung, Verarbeitung, Verteilung sowie des Gebrauches von HBCD zu ergreifen. Die *US Environmental Protection Agency* (EPA), eine Behörde der US-amerikanischen Regierung zum Schutz der Umwelt sowie der menschlichen Gesundheit, hat in diesem Zusammenhang ein Projekt initiiert, welches sich mit der Identifizierung von alternativen FSM befasst. Erste Ergebnisse dieser Studien werden im Dezember 2013 erwartet [42]. Analog zu diesen Vorgängen bestehen zurzeit Überlegungen, HBCD aufgrund seiner toxischen Eigenschaften, einhergehend mit dessen unmittelbaren bzw. langfristigen schädlichen Wirkung auf die Umwelt in die Liste der giftigen Substanzen des kanadischen Umweltschutzgesetzes aufzunehmen [43].

Die Hersteller und Verwender bromierter Flammenschutzmittel haben umfassende Anstrengungen unternommen, um die HBCD-Emissionen in die Umwelt zu reduzieren und zu überwachen. So erfolgte im Jahr 2006 die Gründung der freiwilligen Emissions-Managementprogramme (*Voluntary Emissions Control Action Programme* (VECAP) und *Self Enforced Control of Use to Reduce Emissions* (SECURE)). Die VECAP richtet sich hierbei an die Hersteller sowie die Verbraucher und unterstützt die Entwicklung diverser Verfahren zur Emissions-Kontrolle im Rahmen der Produktion und Verwendung (u. a. in Luft und Wasser). SECURE ist unter den gleichen Maßgaben wie VECAP speziell an die Verwender von HBCD in EPS und XPS adressiert. Ergänzend zu diesen Programmen bestehen Bestrebungen, die HBCD-Gehalte und damit ihre zeitliche Veränderung in der Umwelt anhand eines umfassenden 10-Jahres Monitoring-programmes zu beobachten.

Im neuesten Entwurf der Richtlinie des Europäischen Parlaments und des Rates zur Beschränkung der Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe in Elektro- und Elektronikgeräten zählen HBCD und dessen Diastereomere gemäß Artikel 4 Abs. 7 zu Stoffen, die ein unannehmbares Risiko für die menschliche Gesundheit oder die Umwelt mit sich bringen und somit nicht mehr in Produkten der EU-Mitgliedsstaaten verwendet werden sollten [44]. Die Richtlinie 2002/96/EG des Europäischen Rates und Parlaments über Elektro- und Elektronik-Altgeräte reguliert die getrennte Entsorgung von Schrottteilen aus entsprechend erwähnten Materialien, welche bromierte Flammenschutzmittel enthalten [45].

2.6 HBCD-Analysenverfahren

Die HBCD-Analytik diverser Umwelt- und Lebensmittelmatrixen besteht mit wenigen Ausnahmen aus mehrstufigen Analysengängen, die sich im Wesentlichen aus Probenahme, Probenvorbereitung, Analyt-Extraktion, Extraktaufreinigung, chromatographischer Trennung, Analytdetektion und Quantifizierung zusammensetzen. Bei der Probenahme sind Verfahren zur Gewinnung von Sammelproben einzusetzen, welche als repräsentativ für die betreffenden Partien bzw. Teilpartien der Gesamtheit anzusehen sind. Für die Analyse von PBFSM, im Speziellen von HBCD existiert bislang jedoch keine Norm, welche die Vorgehensweise innerhalb des Probenahmeverfahrens regelt. Um dennoch eine repräsentative Probenahme zu ermöglichen, können bereits festgelegte Verfahren, die zur Probenahme einzelner Analyten

oder Analytgruppen für spezielle Aufgabenstellungen/Probenmaterialien (bspw. die Verordnung (EU) Nr. 252/2012 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysenmethoden für die amtliche Kontrolle der Gehalte an Dioxinen, dioxinähnlichen PCB und nicht dioxinähnlichen PCB in bestimmten Lebensmitteln [46]) als Grundlage dienen, Verwendung finden.

Unverzichtbare Voraussetzung für verlässliche Analysenergebnisse, gerade im Bereich der Spurenanalytik, sind die sachgemäße Homogenisierung des zu untersuchenden Probenmaterials sowie die Vermeidung bzw. Erfassung von Blindwerteinträgen. Neben der sorgfältigen Auswahl von Lösungsmitteln und der Reinigung der verwendeten Geräte und Materialien, sollte im Rahmen von Qualitätssicherungs- und Kontrollmaßnahmen eine angemessene Anzahl an Leerprobenaufarbeitungen und Referenzproben mitgeführt werden. Aufgrund seines ubiquitären Vorkommens in Umwelt- und Lebensmittelproben und den daraus resultierenden unterschiedlichen Ansprüchen an die Extraktion aus diesen Proben sowie die anschließende Aufreinigung der Rohextrakte, ist es unverzichtbar, die quantitative HBCD-Analytik an die diversen Matrices/Matrixgruppen anzupassen und zu validieren.

2.6.1 Probenahme

Obwohl HBCD im Jahr 2008 auf die Kandidatenliste der Stockholm-Konvention gesetzt wurde und zurzeit internationale Bestrebungen bestehen, die Verwendung von HBCD einzuschränken (Richtlinie 2008/0240 (COD) des Europäischen Parlaments [47]), wird die HBCD-Analytik in Umwelt- und Lebensmittelproben nicht routinemäßig betrieben, sondern ist vielmehr Gegenstand von aktuellen Untersuchungen. Dementsprechend weit gefächert sind die verschiedenen Vorgehensweisen zur Probenahme, im Speziellen in Biota, von der Untersuchung einzelner Individuen einer Spezies bis hin zu umfangreichen Probenahmen im Rahmen von Biomonitoring-Projekten. Die angewandten Probenahme-techniken sind hierbei genauso verschieden wie die einzelnen untersuchten Matrices (u. a. marine und terrestrische Biota verschiedenster trophischer Niveaus sowie Abiota wie Wasser, Sediment, Boden oder Klärschlamm). Während die Beprobung von beispielsweise Fischen ausschließlich über den Fischfang und von marinen Säugetieren wie Wale oder Delfine meist über gestrandete Tiere erfolgt, werden atmosphärische Untersuchungen überwiegend unter Verwendung speziell ausgestatteter Filtersysteme durchgeführt, welche die luftgetragenen Partikel akkumulieren [48,49]. Wasserproben können hingegen direkt über die Entnahme eines definierten Wasservolumens zu bestimmten Zeitpunkten an ausgewählten Orten unter Berücksichtigung des Strömungseinflusses gesammelt werden, wobei diese Stichprobenahme bei der Langzeitüberwachung großer Gebiete mit einem hohen Aufwand verbunden ist [50]. Neben einer direkten Probenahme besteht, vergleichbar zu den Filtersystemen bei den atmosphärischen Untersuchungen, die Möglichkeit der Anreicherung von Schadstoffen über einen Diffusionsgradienten an für die Inhaltsstoffe spezifischen Sorbentien (Passivsammler). Durch diese *in situ*-Anreicherung können auch Schadstoffe nachgewiesen werden, die nur in sehr geringen Konzentrationen im Wasser vorliegen [51,52].

2.6.2 Probenvorbereitung

Zur leichteren und effektiveren Handhabung der verschiedenen abiotischen und biotischen Probenmaterialien bei der Homogenisierung, Probeneinwaage oder auch bei Lagerung und Transport, werden diese im ersten Aufarbeitungsschritt auf Wassergehalte von unter 5 % getrocknet. Die Verwendung von auf diese Weise getrockneten Proben erleichtert die Probenaufarbeitung, da zum einen die Extraktionseffizienz infolge der besseren Zugänglichkeit der Matrix gegenüber organischen Lösungsmitteln deutlich steigt und zum anderen mühsame Phasentrennungen mittels Scheidetrichter im Anschluss an die Extraktion vermieden werden. Die Trocknung des jeweiligen Probenmaterials kann hierbei durch verschiedene Techniken erreicht werden. Die Verwendung von wasserfreiem Natriumsulfat zur chemischen Bindung des Wassers stellt die in der HBCD-Analytik am weitesten verbreitete Technik dar. Alternativ können auch wasseradsorbierende Materialien wie Aluminiumoxid oder Kieselgel eingesetzt werden, wobei es sich hierbei im Gegensatz zum Natriumsulfat um eine reversible Wasserbindung handelt. Hierbei sollte beachtet werden, dass durch unvollständiges Auswaschen mit organischem Lösungsmittel Analytverluste auftreten können.

Es bleibt anzumerken, dass der Vorgang der Trocknung unter Verwendung von wasserfreiem Natriumsulfat bei den meisten der angewandten HBCD-Analysenverfahren keinen eigenständigen Teil der Probenvorbereitung darstellt. Die Trocknung erfolgt vielmehr im Verlauf bzw. Anschluss an die Extraktion, indem das Trocknungsmittel direkt in das Extraktionssystem gegeben, dem Rohextrakt zugesetzt oder im Rahmen der Extraktaufreinigung eingesetzt wird. Neben der Evaporation von Wasser bei Raumtemperatur, stellt der Einsatz von Gefriertrocknungsanlagen eine automatisierte Möglichkeit dar, den Wasseranteil in Probenmaterialien auf deutlich unter 5 % zu reduzieren. Allerdings muss bei dieser Verfahrensweise die Möglichkeit von Kreuzkontaminationen zwischen den verschiedenen Probengefäßen beachtet und die Gefriertrocknung entsprechend durchgeführt werden. Die Verwendung eines Gemisches aus Aceton und Cyclohexan, das in der Routineanalytik für die Extraktion von Mineralölkohlenwasserstoffen, polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) und Organochlorpestiziden aus feuchten Umweltmatrices verwendet wird, ist im Falle der HBCD-Analytik trotz der Einsparung eines Trocknungsschrittes ungeeignet. Dies beruht auf der sehr guten Löslichkeit von HBCD in Aceton (Tabelle 3), einhergehend mit einer großen Blindwertproblematik in diesem Lösungsmittel. Ein Sonderfall in der Probenvorbereitung stellen flüssige Proben dar. So erfolgt bspw. im Vorfeld der Extraktion eiweißhaltiger Proben wie Milch und Blutserum, die Abtrennung enthaltener Proteine durch Denaturierung (Änderung der Protein-Konformation durch Lösen der Wasserstoffbrückenbindungen) unter Zugabe einer Mischung aus einem Lösungsmittel (z. B. Isopropanol) und einer schwachen Säure (z. B. Ameisensäure) [53-55].

2.6.3 Extraktion

Die Wahl des Extraktionsverfahrens ist weitestgehend von dem zu untersuchenden Probenmaterial abhängig, wobei die Probeneinwaagen von Biota und Lebensmitteln abhängig vom jeweiligen Fettgehalt und/oder der Homogenisierbarkeit zwischen 0,2 und 150 g variieren können. Die Probeneinwaagen bei Abiota reichen von 0,1 g im Falle von Hausstaub und Textilien, über 20-30 g bei Sedimenten, Boden und Klärschlamm, bis hin zu 800-1.000 g bei Wasserproben.

Zur Extraktion von HBCD aus diversen Umwelt- und Lebensmittelproben werden vorwiegend die klassischen Extraktionsverfahren verwendet, die auch für die Analytik anderer persistenter, lipophiler und unpolarer Verbindungen (bspw. PAKs, polychlorierte Biphenyle (PCB), Dioxine) Einsatz finden. Zu diesen zählen die Schüttelextraktion, die Extraktion unter Verwendung von Ultraschall, die Festphasenextraktion sowie die Soxhlet-Extraktion. Die zuletzt genannte Technik wird in der HBCD-Analytik aufgrund der leichten und kostengünstigen Handhabbarkeit überwiegend unter Verwendung von Hexan, Aceton, Dichlormethan, Ethylacetat, Cyclohexan oder Mischungen aus diesen Lösungsmitteln eingesetzt [56]. Obwohl die Verwendung der beschleunigten Lösungsmittelextraktion (ASE®) einige Vorteile gegenüber der Extraktion nach Soxhlet aufweist, wie die gesteigerte Automatisierung des Verfahrens bei kürzeren Extraktionszeiten und einem geringeren Lösungsmittelverbrauch, wird die ASE® aufgrund der hohen Anschaffungskosten nur vereinzelt eingesetzt. Die Festphasenextraktion an Kieselgel oder Aluminiumoxid in Anlehnung an die Aufarbeitung von PAK in Wasser gemäß DIN 38407-8, ist für die HBCD-Analytik in Wasser ein gängiges Verfahren [57,58].

Die Effizienz einzelner Extraktionsverfahren (ASE®, Mikrowellen- und Ultraschallextraktion) wurde für die Isolierung von HBCD aus Styrol-Polymer-Kunststoffen verglichen [59]. Während unter Einsatz der ASE® und der Mikrowellenextraktion das HBCD mit Wiederfindungen von >95 % aus dem Material herausgelöst werden konnte, ergab die Extraktion mittels Ultraschall lediglich Wiederfindungen von 10-50 %. Ein weiteres Extraktionsverfahren stellt die Hochdruckextraktion mit überkritischen Gasen wie Kohlenstoffdioxid dar. Hiermit werden Extrakte aus Lebensmitteln gewonnen oder unerwünschte Stoffe wie Coffein, Aromen oder Farbstoffe abgetrennt. Für die Extraktion von HBCD erwies sich dieses Verfahren jedoch infolge einer zu geringen Extraktionsausbeute (<10 %) als ungeeignet [60].

2.6.4 Extraktaufreinigung

Matrixbestandteile wie Fette, Fettbegleitstoffe, Proteine oder andere polare Verbindungen, welche über die Extraktion ebenfalls erfasst werden, können gerade bei der Kopplung von Gas- und Flüssigchromatographie mit massenspektrometrischer Detektion zu einer deutlichen Beeinflussung (Ionisierungsverstärkung oder -unterdrückung) des analytischen Signals und somit zu einer Verfälschung des Analyseergebnisses führen. Um diese Matrixeffekte zu eliminieren bzw. zu verringern, bestehen verschiedene Möglichkeiten, die je nach analytischer Fragestellung einzeln oder in Kombination eingesetzt werden:

- Abreicherung der Matrixbestandteile durch ein geeignetes Cleanup-Verfahren,
- Veränderung der chromatographischen Bedingungen,
- Verdünnung der Probe,
- Quantifizierung über externe Matrixstandards,
- Quantifizierung mittels Standardadditionsverfahren,
- Quantifizierung durch Doppelinjektion von Probe und Kalibrierstandard (Echo-Peak-Technik),
- Quantifizierung über interne isotoopenmarkierte Standards.

Die beiden erstgenannten Ansätze finden normalerweise bereits im Rahmen der Methodenentwicklung Anwendung und bedingen neben der Festlegung der Zielanalyten auch eine Festlegung der zu untersuchenden Probenmaterialien. Eine nachträgliche Änderung der chromatographischen Methode (z. B. Lösungsmittelgradient, Säulenofentemperatur) ist im Hinblick auf die damit erforderliche Neuvalidierung als problematisch anzusehen. Die Probenverdünnung ermöglicht hingegen eine Reduzierung des Matrixeffektes ohne großen Aufwand, bedingt jedoch einen ausreichend hohen Gehalt an Zielanalyt bzw. ein ausreichend empfindliches Messsystem, weshalb dieser Ansatz für die Spurenanalytik nur bedingt geeignet ist.

Bei den letzten vier genannten Punkten handelt es sich um Ansätze, die nicht die Vermeidung von Matrixeffekten sondern deren Kompensation zum Ziel haben. Die Quantifizierung des Zielanalyten mittels Standardaddition stellt hierbei das am universellsten anwendbare Konzept dar, da im Vergleich zu externen Matrixstandards die zu untersuchende Probe direkt verwendet wird und keine unbelasteten Probenmaterialien benötigt werden. Das Echo-Peak-Verfahren stellt eine neuere Variante der Quantifizierung mit Hilfe interner Standards dar, spielt allerdings wegen des komplexen Aufbaus und der Anfälligkeit gegenüber Retentionszeitschwankungen eine untergeordnete Rolle. Zur Kompensation von Matrixeffekten sind interne Standards, vor allem isotoopenmarkierte (^{13}C , ^2H) Standards im Rahmen der stabilen Isotoopenverdünnungsanalyse (IVA), am besten geeignet. Im Idealfall kann bei Anwendung der IVA die Analyse ohne zusätzliche Aufreinigung der Extrakte durchgeführt werden (*Dilute and Shoot Approach*). Dem breiten Einsatz der IVA steht jedoch vor allem der Preis der isotoopenmarkierten Standardsubstanzen entgegen, was bei der Betrachtung der zur HBCD-Analytik verfügbaren Literatur deutlich wird. Lediglich bei der Hälfte aller bekannten Veröffentlichungen finden isotoopenmarkierte Standards, vorrangig vollständig ^{13}C -markiertes HBCD, Einsatz. Gegenüber den deuterierten Standards haben sie den Vorteil, dass die Kohlenstoffatome das molekulare Rückgrat darstellen und somit fest gebunden sind. Im Vergleich dazu kann es bei deuterierten Verbindungen zum Austausch von Deuterium durch Wasserstoff-Atome und somit zum Intensitätsverlust des im Massenspektrometer beobachteten Signals (Verschiebung der Molekül-/Fragmentionen-Masse) kommen. Die Verwendung von ^{81}Br -markiertem HBCD spielt für eine routinemäßige Anwendung aufgrund der hohen Kosten für diese derzeit keine Rolle [61].

In den meisten veröffentlichten Monitoring-Studien wird HBCD nicht allein, sondern gemeinsam mit anderen polybromierten Flammenschutzmitteln wie TBBPA, den polybromierten Biphenylen (PBBs) und den polybromierten Diphenylethern (PBDEs) sowie PCBs, Dioxinen und/oder anderen POPs überwiegend unter Verwendung der Gaschromatographie (GC) in Verbindung mit einem Elektroneneinfang-

Detektor (*electron capture detector*, ECD) bzw. einem massenspektrometrischen Detektor (MS) untersucht. Aufgrund der geringen Unterschiede der Polaritäten und Molekülgrößen dieser Vielzahl von Verbindungen sind derartige „Multi-Analyt-Methoden“ nicht ohne größeren Aufwand durch zusätzliche Aufreinigungsschritte realisierbar. Bei Einsatz einheitlicher Aufreinigungsschritte ist im Falle von HBCD darauf zu achten, dass dieses im basischen Milieu im Gegensatz zu den PBBs, PBDEs und TBBPA instabil ist und sich zersetzt [62]. Dennoch ist die Aufreinigung der erhaltenen Rohextrakte vor der instrumentellen Analyse notwendig, um Störkomponenten wie bspw. Fette, Eiweiße oder im Falle von Bodenproben Huminstoffe abzutrennen. Abiotische Extrakte können darüber hinaus auch größere Mengen elementaren Schwefels enthalten, welcher u. a. durch die Behandlung mit pyrogenem Kupfer entfernt werden kann [61,63-65]. In der Probenaufreinigung für die HBCD-Analytik werden zur Extrakt-aufreinigung hauptsächlich die Gelpermeationschromatographie (GPC) und die Adsorptionschromatographie einzeln oder in Kombination eingesetzt. Die GPC ist eine weit verbreitete Technik für die Abtrennung von hochmolekularen Begleitstoffen wie Lipiden, Pigmenten, Proteinen und anderen Polymeren aus Probenextrakten und ist daher für die HBCD-Analytik gut geeignet. Dichlormethan ist ein gebräuchliches Lösungsmittel für diesen Ansatz, kann aber auch durch umweltverträglichere Lösungsmittel wie Ethylacetat, Cyclohexan (oder eine 1 : 1-Mischung <v : v> daraus) oder auch n-Hexan ersetzt werden. In einigen Fällen werden die GPC-Fractionen zur Entfernung von noch verbliebenem Fett im Anschluss bis zur Trockene eingengt, in unpolarem Lösungsmittel aufgenommen und mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt [66-71].

Die Adsorptionschromatographie stellt das in der HBCD-Analytik mit Abstand am häufigsten verwendete Cleanup-Verfahren dar. Hierbei finden meist aktiviertes Kieselgel, z. T. auch mit Schwefelsäure angesäuert, oder Florisil als Adsorbentien in Kombination mit einer Mischung aus Dichlormethan und n-Hexan als Elutionsmittel, Einsatz. Die Elution von HBCD erfolgt in der Regel mit einer Lösungsmittel-zusammensetzung, die es erlaubt, restliche Matrixbestandteile wie Fette oder Eiweiße auf der Säule etwas länger als HBCD zu retardieren (n-Hexan Anteil $\geq 50\%$). Auffallend ist die Anwendung sog. Multilayer-Säulen gerade auf dem Gebiet der HBCD-Analytik in abiotischen Umweltproben (Wasser, Luft, Sediment und Boden) [65,72-75]. Die Packung der Multilayer-Säulen erfolgt abwechselnd mit basischem (Kaliumhydroxid), neutralem und saurem (Schwefelsäure) Kieselgel. Allerdings ist auch hier die Instabilität des HBCDs im basischen Medium zu beachten. Die Wiederfindungsraten bei Anwendung dieser Multilayer-Säulen sind in der verfügbaren Literatur nicht angegeben.

2.6.5 Bestimmung des Fettgehaltes von Biotaprogen

Eine Bestimmung des Fettgehaltes der Biotaprogen wird in der Literatur i. d. R. direkt anhand eines aus dem Rohextrakt entnommenem Aliquotes beschrieben. Alternativ wird auch die Bestimmung nach Smedes, einer auf Isopropanol und Cyclohexan basierenden Fett-Extraktion, eingesetzt [76,77].

2.6.6 Chromatographische Trennung und Detektion

Die klassischen analytischen Verfahren für die Bestimmung von HBCD in Umwelt- und Lebensmittelproben beruhen auf dem Einsatz der HPLC, gekoppelt mit einem massenspektrometrischen Detektor (MS, MS/MS) und der GC in Kombination mit einem ECD bzw. einem MS. In den vergangenen Jahren rückten vor allem die HPLC-MS(/MS)-basierten Analysenverfahren in den Fokus der HBCD-Analytik. Die klassische Dünnschichtchromatographie (DC) spielt mittlerweile nur noch eine untergeordnete Rolle. Lediglich Zitko zeigte 1994, dass HBCD neben anderen bromierten Flammenschutzmitteln auf Kieselgelplatten mit einem Toluol-Hexan-Gemisch unter Verwendung eines auf Silbernitrat basierenden Sprühreagenzes zur Detektion identifizierbar ist [78].

2.6.6.1 Gaschromatographie

In der Lebensmittel- und Umweltanalytik ist die Gaschromatographie eine etablierte und auf breiter Basis angewandte Technik. Allerdings ist im Falle der HBCD-Analytik eine diastereomeren- oder gar

enantiomerenspezifische chromatographische Auftrennung der HBCD-Isomere in ihrer originären Zusammensetzung infolge der thermisch induzierten Isomerisierung oberhalb von 160 °C unter Verwendung der GC nicht möglich. Neben der thermischen Isomerisierung besteht auch das Problem der Zersetzung von HBCD bei Temperaturen oberhalb von 220 °C, aufgrund dessen nicht ausgeschlossen werden kann, dass der in der GC auftretende einzelne HBCD-Peak die Summe aller HBCD-Stereoisomere darstellt oder HBCD unter den gewählten Bedingungen bereits einer thermischen Zersetzung unterlag und daher nicht vollständig erfasst wird. Daher kann die gaschromatographische Analyse nur sehr eingeschränkt für die Bestimmung von HBCD als Summenparameters herangezogen werden. HBCD weist jedoch den Vorteil auf, dass es aufgrund seiner physiko-chemischen Eigenschaften ohne aufwändige Derivatisierung direkt analysiert werden kann. Dies sowie die Möglichkeit, weitere PBFSM durch die geeignete Wahl von Extraktions- und Cleanup-Verfahren gemeinsam mit HBCD zu erfassen, wird in den meisten Fällen ausgenutzt, um im Rahmen von „Multi-Analyt-Methoden“ HBCD als Summenparameter neben den PBDE- sowie TBBPA-Gehalten in diversen Umweltkompartimenten oder in Biota zu ermitteln.

Ein allgemeines Problem der GC, welches auch im Falle der HBCD-Analytik auftritt, stellt die Wahl des Injektionssystems dar. Gerade bei *split/splitless*-Injektoren kann es, bedingt durch den Kontakt mit den heißen Oberflächen des Injektorsystems, zu Analytverlusten kommen, die durch die Verwendung der *on-column*-Injektoren, anderer Kaltaufgabe-Systeme oder durch die Wahl einer niedrigeren Injektortemperatur vermieden werden können. In der GC-Analytik von HBCD werden ausschließlich *split/splitless*-Injektoren in Kombination mit unpolaren bzw. nur gering polaren analytischen Säulen verwendet. Am gebräuchlichsten ist der Einsatz von GC-MS-Kopplungen im Rahmen der HBCD-Analytik, wohingegen der Einsatz der GC-ECD-Kombination trotz des großen linearen Arbeitsbereiches, der einfachen Handhabung und der Kosteneffizienz, nur noch vereinzelt in der Literatur beschrieben wird (Kapitel 7; [79-81]).

Die Elektronenstoßionisation (*Electron Impact*, EI) stellt zwar die älteste, allerdings nicht die am häufigsten verwendete Ionisierungstechnik in der GC-MS-basierten HBCD-Analytik dar. Durch Einsatz der EI kann eine große Anzahl organischer Substanzen z. T. unter starker Fragmentierung ionisiert werden, woraus ein deutlicher Sensitivitätsverlust im *selected ion monitoring* (SIM)-Modus resultiert. Im Gegensatz dazu handelt es sich bei der negativen chemischen Ionisierung (NCI) um eine sogenannte weiche massenspektrometrische Ionisierungsmethode, welche eine geeignete, hoch sensitive Technik für halogenierte Verbindungen mit vier oder mehr Halogenatomen im Molekül darstellt und findet daher auch in der HBCD-Analytik breite Anwendung [45,54,55,82-86].

2.6.6.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und Kopplungstechniken

Der chromatographischen Analyse mittels Umkehrphasen-HPLC (*reversed-Phase* (RP)) kommt in der HBCD-Analytik inzwischen die größte Bedeutung zu. Sie ermöglicht bei einfacher Handhabung die simultane Auftrennung der drei im technischen Gemisch vorliegenden Hauptdiastereomere sowie der Minor Komponenten. Dabei werden fast ausschließlich RP-C₁₈-Phasen verwendet, wohingegen C₃₀-Phasen [87] oder polymerbasierte RP-Phasen [88] nur wenig Anwendung finden. Im Zuge der vollständigen Charakterisierung und der Aufklärung der absoluten Konfiguration der HBCD-Stereoisomere im Jahr 2007 rückt die Analyse der einzelnen Enantiomere stetig in den Fokus. Zu deren chromatographischer Auftrennung werden ausschließlich permethylierte β -Cyclodextrinphasen verwendet. Grundlage hierfür bilden Wirt-Gast-Komplexe zwischen dem Analytmolekül (Gast) und dem hydrophoben Innenraum (Wirt) des permethylierten Cyclodextrins [49,57,89-97]. Ein Vergleich mit anderen auf β -Cyclodextrin basierten Phasen hinsichtlich ihrer Anwendung im Bereich der chromatographischen Trennung von HBCD-Enantiomeren ergaben keine zufriedenstellenden Ergebnisse [57]. Zur Elution von HBCD werden fast ausschließlich Lösungsmittelgradienten unter Verwendung von Acetonitril, Methanol und Wasser eingesetzt. Im Falle einer Kopplung mit einem Massenspektrometer wird dem wässrigen Eluenten in der Regel Ammoniumacetat in niedrigen Konzentrationen (bspw. 10 mM) als Ionisierungsreagenz (Modifier)

zugesetzt. Isokratische Lösungsmittelzusammensetzungen, meist bestehend aus Methanol und Wasser, werden hingegen nur selten verwendet [53,98-101].

In den vergangenen Jahren wurde die sogenannte *Ultra High Performance Liquid Chromatography* (UHPLC), auch als *Rapid Resolution Liquid Chromatography* (RRLC) oder *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC®) bezeichnet, etabliert. Hierbei werden die Vorteile, die sich aus der Verwendung kleiner Partikel (1,7 µm) unter erhöhtem Arbeitsdruck ergeben, zur Erhöhung von Geschwindigkeit und Effizienz der chromatographischen Auftrennung ausgenutzt. Im Bereich der HBCD-Analytik findet die UHPLC jedoch lediglich zur Separierung der HBCD-Diastereomere Anwendung. Für die enantiomerenspezifische Analyse von HBCD kann diese Technik in Ermangelung der Verfügbarkeit chiraler permethylierter β -Cyclodextrinphasen mit Partikelgrößen unterhalb von 5 µm derzeit noch nicht eingesetzt werden [74,99,102].

Die für die Bestimmung von HBCD in Umweltproben am häufigsten verwendete HPLC-basierte Kopplungstechnik ist die HPLC-MS(/MS) in Kombination mit der *Electrospray Ionisation* (ESI) bzw. der *Atmospheric Pressure Chemical Ionisation* (APCI). Bedingt durch die einfache Handhabung, der hohen Nachweis- und Identifizierungsspezifität sowie der hohen Genauigkeit hat die ESI in den letzten Jahren stark an Bedeutung gewonnen und stellt mittlerweile die Methode der Wahl dar. Die massenspektrometrische Detektion erfolgt hierbei hauptsächlich unter Verwendung von Quadrupol-Geräten mit ESI-Ionenquellen im hoch selektiven negativen *Selected Reaction Monitoring*-Modus (SRM-Modus) unter Beobachtung der Massenübergänge, ausgehend vom Quasimolekulation ($[M-H]^-$, m/z 641) des HBCDs auf das Brom-Ion ($[Br]^-$, m/z 79 bzw. 81). Vereinzelt werden in der Literatur auch Kopplungen der HPLC mit Flugzeitmassenspektrometern [103,104] bzw. Ionenfallen [90] zur Detektion von HBCD beschrieben.

Der geringe Einsatz der zuletzt genannten Ionenfallen ist mitunter darauf zurückzuführen, dass bei älteren Geräten die erforderlichen spezifischen SRM-Übergänge (m/z 640,6 \rightarrow 79,0/81,0) aufgrund des sogenannten *low mass cut-off*-Effektes nicht bzw. nicht mit ausreichender Empfindlichkeit erfasst werden konnten. Aus diesem Grund untersuchten Gómara *et al.* [90] im Jahr 2007 ein zuvor von Morris *et al.* [105] beschriebenes Addukt-Ion bei m/z 676,6 unter Verwendung einer Ionenfalle näher und konnten dieses erfolgreich als Chlor-Addukt ($[M-H+Cl]^-$) identifizieren. Infolgedessen erreichten Gómara *et al.* durch den Zusatz von Ammoniumchlorid zur mobilen Phase eine deutliche Stabilisierung und gleichzeitige Verstärkung des Chlor-Addukt-Signals, um aufbauend auf diesem Ergebnis ein neues HPLC-MS/MS-Verfahren unter Verwendung des Massenüberganges m/z 676,6 \rightarrow 640,6 ($[M+Cl]^- \rightarrow [M-H]^-$) zu entwickeln. Die für dieses Verfahren ermittelten Nachweisgrenzen (NWG) lagen zwischen 1,9 und 5,5 ng g⁻¹ und waren somit deutlich höher als vergleichbare NWGs von Quadrupol-Geräten (zwischen 0,02-0,30 ng g⁻¹).

Neben ESI und APCI stellt die Atmosphärendruck-Photoionisation (*Atmospheric Pressure Photoionisation*, APPI) eine weitere Möglichkeit der Atmosphärendruck-Ionisation dar, welche bis vor kurzem jedoch lediglich in der HPLC-basierten Bestimmung von PBDEs Anwendung fand [106,107]. Erst im Jahr 2010 wurde erstmals der Einsatz der APPI auch für die Analytik von HBCD beschrieben [108]. Die Nachweisgrenzen lagen hierbei zwischen 48 und 190 pg g⁻¹ und somit im mittleren Bereich des in der Literatur angegebenen Bereiches. Eine Weiterentwicklung der APPI, die sogenannte *Anion Attachment Atmospheric Pressure Photoionisation* (AA-APPI), hat sich als geeignete Ionisierungstechnik für bislang schwer ionisierbare Makromoleküle (wie bspw. Peptide oder Polymere) erwiesen. Die Ionisierung von HBCD mittels AA-APPI wurde daraufhin von Ross und Wong untersucht und mit der der APPI verglichen [109]. Als Resultat dieser Studie wurden um den Faktor drei niedrigere Nachweis- und Bestimmungsgrenzen seitens der AA-APPI ermittelt, sodass diese Ionisierungstechnik als eine adäquate Alternative zur Elektrospray-Ionisierung zu betrachten ist.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die hier vorgestellten Analysenverfahren zur isomeren-spezifischen Bestimmung von HBCD mittels HPLC sowie GC (Summenparameter) aufgrund der hohen Empfindlichkeit (z. B. Bestimmungsgrenzen), Sensitivität und Selektivität sehr gut geeignet sind, um HBCD auch im Spurenbereich zu quantifizieren. Als nachteilig sind der mitunter zeitaufwändige

Bearbeitungsprozess sowie ein zumeist gerätebedingt reduzierter Probendurchsatz anzusehen. Die Wiederfindungsraten liegen bei allen beschriebenen Analysenverfahren im Bereich zwischen 41 und 144 %, wobei sich unter Betrachtung des Einsatzes isotope markierter Standards diese große Spannweite erwartungsgemäß deutlich reduziert [98,110-113]. Darüber hinaus scheinen Aufarbeitungsschritte wie die Schüttelextraktion und die Verwendung von konzentrierter Schwefelsäure zur Abtrennung verbleibender Lipide die Wiederfindung von HBCD negativ zu beeinflussen.

Trotz einer großen Anzahl wissenschaftlicher Studien mit dem Ziel der Entwicklung eines geeigneten Analysenverfahrens, existiert bislang kein normiertes Analysenverfahren zur Bestimmung von HBCD in Umwelt- sowie in Lebensmittelproben. Regelmäßige Teilnahmen an Ringversuchsstudien (vornehmlich Laboreignungsprüfungen) sind ein wichtiges Instrument der (externen) Qualitätssicherung für Laboratorien und werden daher als solches in der DIN EN ISO/IEC 17025 ausdrücklich empfohlen [114]. Im Rahmen eines Ringversuches ermöglicht der Vergleich von unter authentischen Bedingungen ermittelten Serien von Analysenergebnissen identischer Probenmaterialien, Aussagen über die Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) des vom jeweiligen Laboratorium angewandten Analysenverfahrens zu treffen. Im Falle des Vorliegens einer Akkreditierung sind Laboratorien darüber hinaus verpflichtet, auch mittels Teilnahme an Ringversuchen die Validität der eingesetzten Analysenverfahren unter Beweis zu stellen. Bislang wurde nur eine geringe Anzahl an Ringversuchsstudien auf dem Gebiet der HBCD-Analytik mit einer eher begrenzten Anzahl an Teilnehmern durchgeführt, deren Ergebnisse mit relativen Standardabweichungen von <35 % recht zufriedenstellend ausfielen [115,116]. Als Schwachstellen der angewandten Analytik konnten in diesem Zusammenhang vor allem die Bestimmungen unterhalb von 2 ng g⁻¹ lw (*lipid weight*, bezogen auf den Fettgehalt der untersuchten Matrix) identifiziert werden.

Als zweites qualitätssicherndes Instrument zur Erfüllung der steigenden Ansprüche an die Verlässlichkeit der Analysenergebnisse von Prüflaboratorien ist der Einsatz von zertifizierten Referenzmaterialien (ZRMs) elementarer Bestandteil. Bis zum heutigen Tag sind jedoch keine ZRMs für HBCD verfügbar. Aus diesem Grund findet zur Ermittlung der Richtigkeit eines Analysenverfahrens, neben der Teilnahme an Laboreignungsprüfungen, vor allem der Verfahrensansatz der Standardaddition Anwendung. Es sollte dabei beachtet werden, dass die Standardaddition gegenüber dem Einsatz von ZRMs, validierten Referenzverfahren und der Teilnahme an Ringversuchen den geringsten Grad an Rückführbarkeit für die Ermittlung des Bias der Messung besitzt. In Anbetracht der diesbezüglichen aktuellen Situation im Bereich der HBCD-Analytik sollte stets der Verfahrensansatz mit dem größtmöglichen Grad an Rückführbarkeit gewählt werden, welcher hier durch die Standardaddition gegeben ist.

2.7 Freisetzung von HBCD bei der Produktion und der Verwendung – Theorie des globalen Stofftransportes

Aufgrund des Einsatzes als additives PBFSM kann HBCD im Verlauf des Produktionsprozesses (beispielsweise über kontaminiertes Abwasser), der Gebrauchsphase und der Nachgebrauchsphase des flammgeschützten Produktes (Mülldeponie, Recycling, Müllverbrennung) in die Umwelt freigesetzt werden. In der EU sind neben der einzigen HBCD-Produktionsstätte in den Niederlanden hunderte von HBCD-verarbeitenden Betrieben bekannt [32]. In der weltweiten HBCD-herstellenden und -verarbeitenden Industrie bestehen seit Inkrafttreten des VECAP-Programmes im Jahre 2004 Bestrebungen, Methoden zur Emissions-Kontrolle in Luft, Wasser sowie in Bodenabfällen zu entwickeln [117], bspw. durch:

- Einsatz von Luftfiltern und anschließender katalytischer Verbrennung,
- Aufreinigung von beim Herstellungsprozess anfallendem Abwasser mittels Aktivkohle,
- kontrollierte Verbrennung organischer Abfälle.

Im Resultat der bisherigen Aktivitäten konnte eine Absenkung der jährlichen Gesamt-HBCD-Emission von 2.017 kg (2007) auf 309 kg (2008) erzielt werden [32]. Neben dieser industriellen Emission unterliegt

HBCD ebenfalls der Migration aus Baustoffen sowie Konsumgütern (Kabel, Elektronikgehäusen, Autoinnenräumen) und trägt auf diese Weise zu einer deutlichen Innenraumbelastung bei [118].

Auch in den arktischen Regionen, in denen HBCD weder produziert noch verwendet wird, konnte infolge des sogenannten Schadstoff-Ferntransportes die Verbreitung und Anreicherung von HBCD in diversen Umweltkompartimenten nachgewiesen werden [71,85,119-123]. Prinzipiell können Umweltschadstoffe über verschiedene Transportwege in die polaren Regionen gelangen. Abhängig von den jeweiligen physiko-chemischen Eigenschaften kann ein Transport über die Atmosphäre, das Meer (Meeresströmungen), transpolares Packeis oder die arktischen Flusssysteme erfolgen. Für alle diese Verteilungsmöglichkeiten ist die Persistenz der betreffenden Verbindungen ausschlaggebend, welche somit mikrobiologisch nicht oder nur sehr langsam in „kalten“ Regionen abgebaut werden.

Gerade der atmosphärische Ferntransport von POPs steht erst seit den vergangenen beiden Jahrzehnten im Fokus des öffentlichen sowie wissenschaftlichen Interesses. Im Rahmen des durch die arktischen Anrainerstaaten gegründeten internationalen *Arctic Monitoring and Assessment Programme* (AMAP) erfolgt eine Überwachung des Stofftransportes und der Schadstoffdeposition sowie die Untersuchung der Auswirkungen der POPs auf Mensch und Tier.

Im Zusammenhang mit der Verabschiedung der Stockholm-Konvention wurden 21 POPs benannt und für diese völkerrechtlich bindende Verbots- und Beschränkungsmaßnahmen beschlossen. Zu dieser Liste von POPs zählen u. a. Aldrin, Dieldrin, Lindan, Hexachlorbenzol, PCBs, polychlorierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane (PCDD/PCDF) sowie α - und β -Hexachlorcyclohexan (HCH). Zur Aufnahme einer Chemikalie in diese Verbots- und Beschränkungsliste muss diese gemäß der Anlage D der Stockholm-Konvention verschiedene Kriterien hinsichtlich ihrer chemischen Identität, Persistenz, Fähigkeit zur Bioakkumulation sowie deren Potential zum Ferntransport in der Umwelt erfüllen [124].

Bezogen auf HBCD, das eine Halbwertszeit von über 60 Tagen in Wasser aufweist, ergaben Untersuchungen entsprechend der OECD-Richtlinie 301D keinen mikrobiologischen Abbau innerhalb von 28 Tagen. Mit einem $K_{ow} > 5$ und einem ermittelten Biokonzentrationsfaktor (BCF) von 18.100 (log BCF 4,26) besitzt HBCD ein Potential zur Bioakkumulation, was durch eine Vielzahl unabhängiger Studien untermauert wird (Tabellen A4-A9). Weitere Monitoringdaten hinsichtlich ansteigender HBCD-Gehalte in entfernten, abgelegenen Regionen, z. B. in Abiota und Biota des Nordatlantiks oder der arktischen Regionen sowie der geringe Dampfdruck lassen darauf schließen, dass HBCD dem Ferntransport unterliegt. Infolge dieser Eigenschaften sowie unter Berücksichtigung der toxikologischen Datenlage wurde HBCD im Oktober 2009 in die Kandidaten-Liste der Stockholm-Konvention aufgenommen [125].

Eine weitere Möglichkeit des Schadstoff-Ferntransportes stellt die Verteilung über Nahrungsketten dar. Durch eine Bioakkumulation der Schadstoffe, bspw. innerhalb der marinen Nahrungsketten, erfolgt durch das Wanderungsverhalten der Tiere, das mit dem trophischen Niveau der jeweiligen Tierart zunimmt, ein überwiegend aquatischer Stofftransport über weite Strecken. Als Hauptursachen für den Ferntransport von POPs werden nach heutigem Kenntnisstand verschiedene Modelle sowohl des atmosphärischen als auch des wassergebundenen Ferntransportes angesehen. Die Theorie der „globalen Destillation“ basiert auf dem von den physiko-chemischen Eigenschaften (wie Löslichkeit, Dampfdruck, Verteilungskoeffizient oder Molekülgröße) abhängigen Transport in die Luft und anschließender Deposition im Erdboden oder Sediment. Organische Verbindungen mit einem hohen Dampfdruck gelangen leicht in die Gasphase und werden so über die globalen Luftströmungen in die arktischen Regionen transportiert, wo sie bedingt durch die niedrigeren Temperaturen sowie durch Niederschlag in Form von Schnee deponiert werden. Weniger flüchtige Verbindungen wie auch das HBCD, werden überwiegend partikelgebunden transportiert [126]. In Kaltwetterperioden werden diese Komponenten aus der Luft gewaschen und im Seewasser oder auch im Boden zwischengelagert. In wärmeren Perioden werden diese Verbindungen „remobilisiert“ und unterliegen somit erneut dem Lufttransport. Der Prozess der immer wiederkehrenden Remobilisierung und Deposition wird häufig als „Grashüpfer-Effekt“ bezeichnet. Neben den stoffbezogenen Parametern wie Flüchtigkeit und Wasserlöslichkeit, die vorwiegend für die Art des

Ferntransportes verantwortlich sind, spielen auch die klimatischen Bedingungen einer Region wie mittlere Umgebungstemperatur, Niederschlagsmenge sowie Luftfeuchtigkeit, eine bedeutende Rolle.

Die klimatischen Gegebenheiten der nördlichen und südlichen Polarregionen sind Grund für die bevorzugte Deposition persistenter Schadstoffe. So führt der in Form von Schnee auftretende Niederschlag aufgrund der bei Schneekristallen im Vergleich zu Regentropfen stark vergrößerten Oberfläche zu einer effektiveren Adsorption und damit zu einer verstärkten Deposition [127,128]. Der mikrobielle Abbau von organischem Material ist in den polaren Klimazonen stark reduziert. Das Zusammenspiel klimatischer Gegebenheiten dieser Regionen und physiko-chemischer Eigenschaften persistenter Verbindungen haben zur Folge, dass seit den 1930er Jahren in diesen Gebieten hohe, toxikologisch relevante Gehalte verschiedener Umweltschadstoffe in biologischen Matrices nachgewiesen werden können. Aufgrund dieser hohen Schadstoffbelastungen erfolgte 1998 zunächst eine Empfehlung der Gesundheitsbehörden der Faröer Inseln, den Konsum von Walfleisch einzuschränken, gefolgt von einem Aufruf im Jahr 2008, gänzlich darauf zu verzichten [129].

2.8 Vorkommen und Verteilung von HBCD in relevanten abiotischen und biotischen Matrices

In den nachfolgenden Kapiteln werden sowohl das Vorkommen von HBCD in verschiedenen Umweltkompartimenten als auch die zeitliche Entwicklung der HBCD-Gehalte in diesen diskutiert. Im Vorfeld dieser Betrachtung muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass grundsätzlich nur ein Analysenwert mit Angabe der zugehörigen Messunsicherheit einen verlässlichen Vergleich verschiedener Analyseergebnisse und somit eine Einordnung dieses Wertes in eine bestehende Datenbasis zulässt [130,131]. Die Veröffentlichung der HBCD-Gehalte (Monitoringdaten) in den unterschiedlichen Umweltkompartimenten erfolgte in den nachfolgend genannten Literaturstellen jedoch nur teilweise unter Angabe der entsprechenden Messunsicherheit. In den nachfolgenden Kapiteln ist daher lediglich eine vage, statistisch nicht abgesicherte Einordnung und Diskussion der jeweilig angegebenen Werte bzw. Wertebereiche möglich.

2.8.1 Isomerenspezifisches Verteilungsmuster

Das Verteilungsmuster der HBCD-Stereoisomere entspricht in den meisten abiotischen Proben dem des technischen Gemisches mit γ -HBCD als dem dominierenden Diastereomer. Allerdings zeigen einige Studien [48,65,112,132] signifikant erhöhte Gehalte an α -HBCD. So wiesen bspw. Klärschlammproben ein annähernd ausgeglichenes Verhältnis zwischen α - und γ -HBCD auf [133]. Gründe hierfür könnten eine thermische Isomerisierung der HBCD-Isomere (Kapitel 2.2.3.2) im Rahmen ihrer Verarbeitung (Kapitel 2.4.1), unterschiedliche Adsorptionseigenschaften sowie Löslichkeiten der Diastereomere und/oder bislang ungeklärte stereoisomerenspezifische Prozesse in der Umwelt sein [134].

In Biota hingegen dominiert α -HBCD die Diastereomeren-Verteilung, wie aus Abbildung 5 ersichtlich ist. Bei genauerer Betrachtung dieser Daten ist darüber hinaus ein Trend dieser Verteilung über die trophischen Niveaus hinweg erkennbar. Während wirbellose Tiere wie Plankton, Schnecken, Muscheln oder auch Dekapoden ein α - zu γ -HBCD-Verhältnis von $\approx 1,4$ aufweisen, liegt dieser Wert im Falle mariner Säugetiere und des Menschen bei 7,2-8. Vögel, darunter gemittelte Daten vom Papageitaucher (*Fratercula arctica*), Kormoran (*Phalacrocorax carbo*), Falken (*Falco peregrinus*) sowie verschiedener Möwenspezies weisen sogar ein α - zu γ -HBCD-Verhältnis von ≈ 25 auf. Als mögliche Ursachen für dieses Phänomen können neben dem unterschiedlichen akkumulativen Verhalten der jeweiligen HBCD-Diastereomere auch die unterschiedlichen Absorptions-, Resorptions- oder Metabolisierungs-Geschwindigkeiten in Biota angesehen werden [134]. Fischfütterungsstudien gaben Hinweise auf eine mögliche Bioisomerisierung von γ - zu α -HBCD im Anschluss an die Resorption, wodurch ebenfalls die Dominanz des α -Diastereomers in Biota erklärt werden kann [135,136]. Ein weiterer Erklärungsansatz beruht auf unterschiedlichen Metabolisierungsgeschwindigkeiten der Diastereomere im Organismus wie infolge von *in vitro*-Untersuchungen an hepatischen Rattenmikrosomen postuliert wurde [93,137]. Bezüglich der

isomerenspezifischen HBCD-Belastung terrestrischer Säugetiere ist bisher nur eine Studie zur Untersuchung von Marderhunden (*Nyctereutes procyonoides*) bekannt. Die ermittelte HBCD-Isomerenverteilung lag hierbei im Vergleich zu den in Abbildung 5 dargestellten HBCD-Diastereomeren-Verteilungen verschiedener Biota mit prozentualen Anteilen von 65-71 % α - und 24-26 % γ -HBCD im mittleren Bereich. Auch marine und Süßwasserfische befinden sich innerhalb dieses Bereiches, wobei auffällig ist, dass bei diesen Spezies das α - zu γ -HBCD-Verhältnis in der Leber größer als im Filet ist [138,139].

Untersuchungen hinsichtlich des Verteilungsmusters der Diastereomeren in Pflanzen erfolgten in einer heterogenen Gruppe von Lebensmitteln (u. a. Getreide, Gemüse, Obst), deren deutlich verschiedene HBCD-Kontaminationen sich in entsprechend hohen Streuungen der ermittelten Gehalte widerspiegeln. Während beispielsweise in Kartoffeln γ -HBCD nicht nachgewiesen werden konnte [140], stellte es in Reis das dominierende Diastereomer dar (Tabelle A15; [141]).

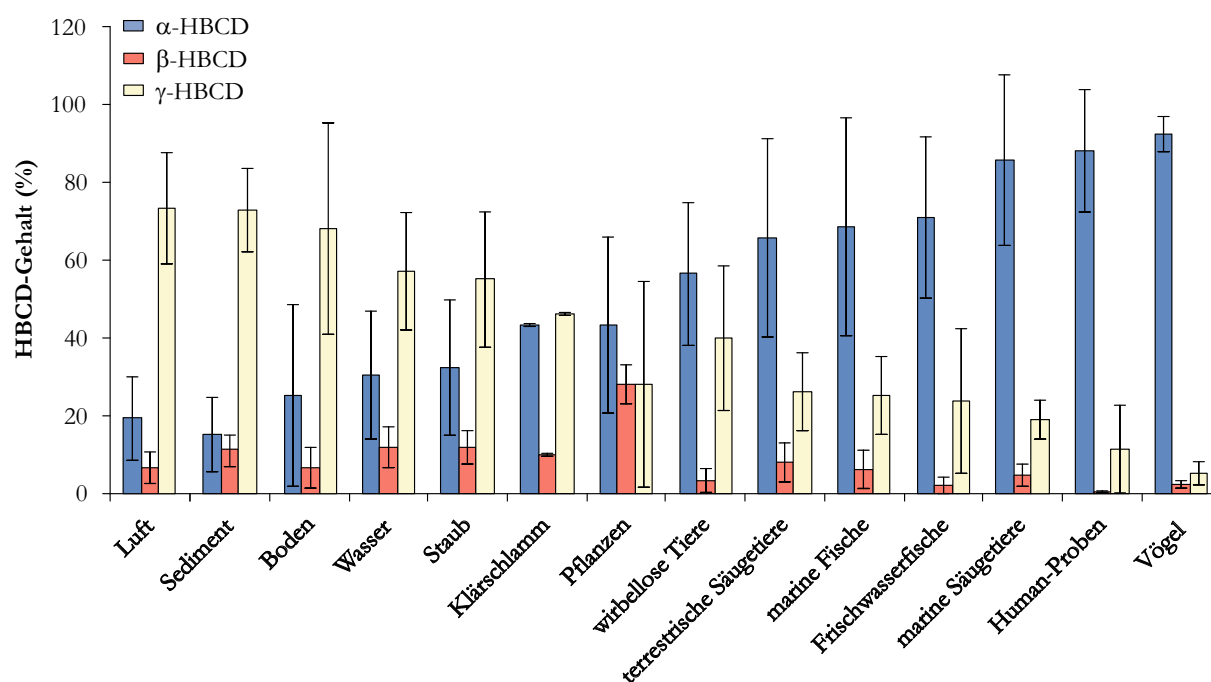


Abbildung 5: Mittelwerte und Streuungen (Standardabweichung s) der prozentualen HBCD-Diastereomeren-Gehalte in verschiedenen Umweltkompartimenten, angeordnet nach steigendem α -HBCD-Anteil. Die Daten basieren auf den in Kapitel 7 aufgeführten Studien.

Die einzige Gemeinsamkeit bezüglich der Untersuchung der HBCD-Isomerenverteilung in Pflanzen ist das Vorliegen eines signifikant erhöhten prozentualen Anteils an β -HBCD gegenüber dem des technischen HBCD-Gemisches. Bezüglich des Auftretens möglicher Adsorptions- und Metabolisierungspfade von HBCD in Pflanzen sind bislang keine Studien bekannt, sodass zum jetzigen Zeitpunkt der Einfluss dieser Prozesse auf die Diastereomerenverteilung in Pflanzen nicht abgeschätzt werden kann. Einen möglichen Erklärungsansatz bietet jedoch das in der Literatur bereits ausführlich diskutierte Insektizid HCH [142]. Das dem HBCD strukturell verwandte HCH zeichnet sich durch eine ähnlich komplexe Stereochemie (jeweils sechs Stereozentren) sowie analoge Abweichungen in den Stereoisomeren-Verteilungsmustern in Biota gegenüber denen im technischen Gemisch von HCH aus. Während bei HCH das α -Diastereomer im technischen Gemisch dominiert, wird in Biota überwiegend β -HCH nachgewiesen. Die Adsorptions- und Verteilungspfade der HCH-Stereoisomere in Pflanzen wurden bereits untersucht und zeigten, dass die HCH-Akkumulation unabhängig von der Art der Aufnahme (über Wurzeln bzw. Luft) isomerenspezifisch verläuft [143]. Demensprechend ist es möglich, dass auch die Aufnahme von HBCD in der Pflanze diastereomerenspezifischen Prozessen unterliegt und somit eine entsprechende Anreicherung von β -HBCD zu erklären wäre.

Die Abhängigkeit der HBCD-Diastereomeren-Verteilung in Biota von der Ernährung der jeweiligen Spezies wird bei Betrachtung der in der Literatur angegebenen mittleren prozentualen HBCD-Gehalte in Süßwasserfischen verdeutlicht (Abbildung 6). Betrachtet man Fried- und Raubfische getrennt voneinander, so ist zu erkennen, dass erstere im Mittel eine etwas stärkere, jedoch aufgrund der Schwankungsbreite der zugrundeliegenden Daten nicht signifikante Verschiebung von α - hin zu γ -HBCD aufweisen. Während Süßwasser-Raubfische wie Hecht oder Zander sich von anderen kleineren Fischen ernähren, besteht die Nahrung der Friedfische ausschließlich aus Insektenlarven sowie Schnecken und Würmern am Grund der Seen oder Flüsse. Karpfen bspw. suchen ihre Nahrung durch Gründeln und Durchwühlen des Gewässergrundes. Aufgrund dieses intensiven Kontaktes mit dem vorwiegend durch γ -HBCD belasteten Sediments (Abbildung 5) wird unter Berücksichtigung einer entsprechenden Aufnahme die beobachtbare Verschiebung des Diastereomerenmusters erklärbar. Zur besseren Beschreibung und Beurteilung von HBCD-Enantiomerenverhältnissen in Umweltproben werden Enantiomerenfraktionen (EF, *enantiomeric fractions*) angegeben. Ausgehend von einem racemischen Gemisch ergibt sich ein EF-Wert von 0,5. Eine signifikante Abweichung der Enantiomerenfraktion von diesem theoretischen Mittel deutet auf eine enantiomerspezifische Interaktionen, beispielsweise im Organismus, hin [144]. Da im Rahmen der GC-Analyse eine Quantifizierung der einzelnen HBCD-Isomere aufgrund der thermischen Interkonvertierung nicht realisierbar ist (Kapitel 2.6.6.1), kann eine Berechnung der Enantiomerenfraktionen lediglich unter Einsatz chiraler HPLC-Phasen durchgeführt werden.

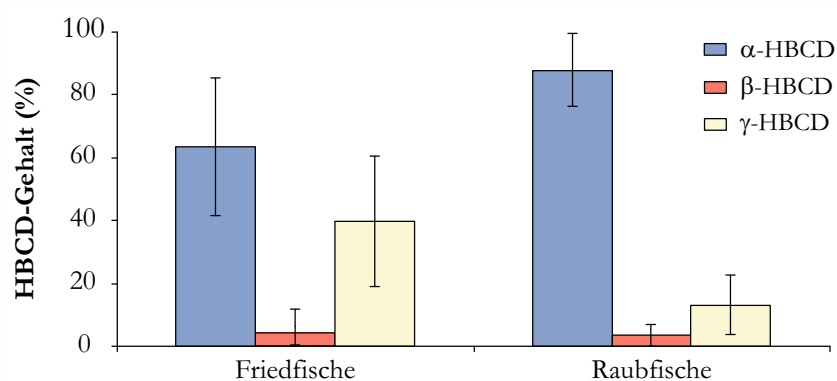


Abbildung 6: Prozentuale Verteilung der HBCD-Diastereomeren von in Binnengewässern lebenden Fried- und Raubfischen. Die Daten basieren auf den in Kapitel 7 aufgeführten Studien.

Erste Untersuchungen im Hinblick auf eine HBCD-Belastung erfolgten 2005 anhand der Analyse von Fischproben aus den Niederlanden, wobei bei Wittling (*Merlangius merlangus*), Seezunge (*Solea solea*) und Franzosendorsch (*Trisopterus luscus*) jeweils eine Anreicherung von (-)- α -, (-)- β - und (+)- γ -HBCD ermittelt wurde [138]. Weitere Studien an Seeforellen (*Salmo trutta lacustris*) des Ontariosees in Kanada [95], Weißseitendelfinen (*Lagenorhynchus acutus*) der US-amerikanischen Ostküste [96], Belugawalen (*Delfinapterus leucas*), Narwalen (*Monodon monoceros*) und Walrössern (*Odobenus rosmarus*) der Arktis [54], diversen räuberischen Fischen eines norwegischen Fjordes [145], europäischen Süßwasserfischen [63,91] sowie an Humanmilchproben aus Spanien [89] bestätigten diese ersten Befunde. Allerdings scheint diese Enantiomerspezifität in Biota, womöglich infolge isomerspezifischer Adsorptions-, Exkretions- oder Metabolisierungsprozesse bzw. bedingt durch die nicht für alle Organismen identische Bioverfügbarkeit der HBCD-Enantiomere, nicht gleich zu verlaufen. Durch die Betrachtung der HBCD-Gehalte von verschiedenen Vogelspezies konnten bspw. diese enantiomerspezifischen Anreicherungen nicht eindeutig bestätigt werden. So identifizierten Janák *et al.* eine Anreicherung des (+)- α -Enantiomers bei Proben des Weißkopfschneiders (*Haliaeetus leucocephalus*) sowie von (-)- α -HBCD bei Falken und Flussschwalben (*Sterna hirundo*) [94]. Ähnliche Ergebnisse erzielten He *et al.* [141]. Während in Bacchusreiherproben (*Ardeola bacchus*) (+)- α -HBCD dominierte, ist die Enantiomerspezifität bei der Perlhalstaube (*Streptopelia chinensis*) und der Perlfrankoline (*Francolinus pintadeanus*) in Richtung des (-)- α -Enantiomers verschoben. Interessanterweise handelt es sich bei den (+)- α -HBCD-anreichernden Vögeln

um räuberische Spezies, welche sich überwiegend bzw. ausschließlich von Fischen ernähren, wohingegen bei den körner- und insektenfressenden Spezies eine Verschiebung zum (-)- α -HBCD vorliegt. Eine Ausnahme hierbei stellt die Flusseeschwalbe dar, welche sich u. a. auch von kleinen Fischen ernährt. Da es sich hierbei jedoch im Vergleich zu den anderen erwähnten Spezies um einen Zugvogel handelt, ist dieser gesondert zu betrachten.

Bislang beschäftigten sich nur wenige Studien mit der enantiomerenspezifischen Untersuchung von abiotischen Matrices. So konnte in Luft eine leichte Anreicherung von (-)- α -HBCD nachgewiesen werden [65]. Widersprüchlich sind hingegen Untersuchungsergebnisse in verschiedenen Flusssedimenten, welche von razemischen Befunden [63] bis hin zu einer Anreicherung der (+)- α - und (+)- γ -Enantiomere reichen [57,91]. Als mögliche Erklärungsansätze für diese Anreicherung können neben enantiomerenspezifischen Prozessen im Wasser und Sediment (durch Mikroorganismen) auch die spezifischen Migrationsraten der HBCD-Isomere während der Herstellung, Verarbeitung sowie dem Einsatz des flammgeschützten Materials in Betracht gezogen werden.

2.8.2 Monitoringdaten von HBCD in Umweltkompartimenten und biotischen Matrices

Bislang wurden in nahezu jedem Umweltkompartiment Kontaminationen von HBCD nachgewiesen [51,121,134,146-150]. Die umfangreichste Datenlücke besteht hierbei hinsichtlich der Gehalte in Boden und Klärschlamm. Nicht zuletzt wegen seines bioakkumulativen Potentials, seiner Persistenz sowie seiner Tendenz zum Schadstoffentransport stellt das ubiquitär vorkommende HBCD eine Umweltkontaminante dar, dessen Analytik in den vergangenen Jahren verstärkt in den Fokus der Forschung getreten ist. In den Tabellen A1 bis A15 (Kapitel 7) sind die HBCD-Gehalte (als Summenparameter, diastereomeren- oder enantiomerenspezifisch) diverser Umweltkompartimente sowie von Lebensmitteln und Humanproben aufgeführt.

Neben den drei HBCD-Hauptdiastereomeren konnte in 43 % aller in englischen Seen untersuchten Fischproben die *meso*-Form δ -HBCD mit prozentualen Anteilen von 1,0 bis 11,0 %, bezogen auf den Gesamtgehalt an HBCD, quantifiziert werden [63]. Da diese Gehalte den Anteil an δ -HBCD im technischen Gemisch (0,5 %) signifikant übersteigen, ergibt sich die Frage nach der Herkunft dieses Isomers und seiner Bioakkumulation. Bislang gibt es jedoch noch keine verfügbaren Daten bezüglich des Umweltverhaltens von δ -HBCD, sodass als mögliche Einbringungspfade die Anreicherung über die Nahrungsketten bzw. die Bildung der *meso*-Form im Rahmen einer Bioisomerisierung in Betracht gezogen werden müssen.

2.8.2.1 Oberflächenwasser

Mit der Untersuchung von HBCD-Kontaminationen in Oberflächengewässern haben sich bis zum heutigen Tage nur wenige Studien befasst [50,51,63,141], wobei die bisher ermittelten Konzentrationen von 52 pg L⁻¹ in Süd-China [141] bis 270 pg L⁻¹ im Edgbaston Pool, einem See nahe Birmingham, reichen [63]. Industrieabwässer wiesen hingegen deutlich höhere HBCD-Konzentrationen im Bereich von 9 bis 21.000 µg L⁻¹ auf [50]. Die geringeren Belastungen, die aus dieser Studie hervorgingen, entsprachen hierbei Wasserproben, welche direkt nach dem Aufreinigungsprozess entnommen wurden, wohingegen die hohen Konzentrationen in unbehandeltem Betriebswasser, kurz vor der Einleitung in die firmeneigenen Abwasser-Aufbereitungs-Anlagen bestimmt wurden. Die Tatsache, dass diese Konzentrationen die in der Literatur beschriebene Wasserlöslichkeit von HBCD um bis zu vier Dekaden überschreiten (Kapitel 2.2.3.3), kann durch eine nicht erfolgte Abtrennung von stark mit HBCD angereicherten Schwebstoffen aus den Wasserproben vor den Analysen erklärt werden.

2.8.2.2 Luft und Staub

In die Gasphase gelangtes HBCD adsorbiert, bedingt durch einen relativ geringen Dampfdruck sowie durch die Affinität zu organischem Kohlenstoff, an in der Luft befindliche Partikel und kann auf diese Weise dem atmosphärischen Ferntransport unterliegen (Kapitel 2.7.1). So konnte in verschiedenen

Regionen der Welt wie China ($0,4\text{--}40\text{ pg m}^{-3}$), Japan ($13\text{--}15\text{ pg m}^{-3}$) und den USA ($0,16\text{--}11\text{ pg m}^{-3}$) HBCD in der Luft nachgewiesen werden [48,49,65,151]. Hoh und Hites untersuchten diesbezüglich den Einfluss urbaner Gebiete sowie die Emission von Produktionsstätten auf die atmosphärische Konzentration von HBCD in den Vereinigten Staaten von Amerika [48]. Die Kontaminations-Niveaus von Proben, die in näherer Umgebung (etwa 150 km) zweier HBCD-Produktionsstätten gesammelt wurden, lagen mit ca. 11 pg m^{-3} in der gleichen Größenordnung wie diejenigen von ländlich dominierten Gebieten (bspw. Louisiana und Michigan ($0,16\text{--}8\text{ pg m}^{-3}$)). Daher kann geschlossen werden, dass HBCD infolge des überwiegend partikelgebundenen atmosphärischen Stofftransportes einer weiträumigen Verteilung bis in wenig industrialisierte Regionen unterliegt. In Europa wurden teilweise deutlich höhere Konzentrationen in England (40 pg m^{-3}) und Schweden (610 pg m^{-3}) ermittelt (Abbildung 7; [113,152]). Untersuchungen an Luftproben, gesammelt direkt am Arbeitsplatz von Mitarbeitern eines skandinavischen XPS-produzierenden Betriebes, ergaben ebenfalls deutlich erhöhte HBCD-Belastungen ($0,2\text{--}150\text{ pg m}^{-3}$, [153]).

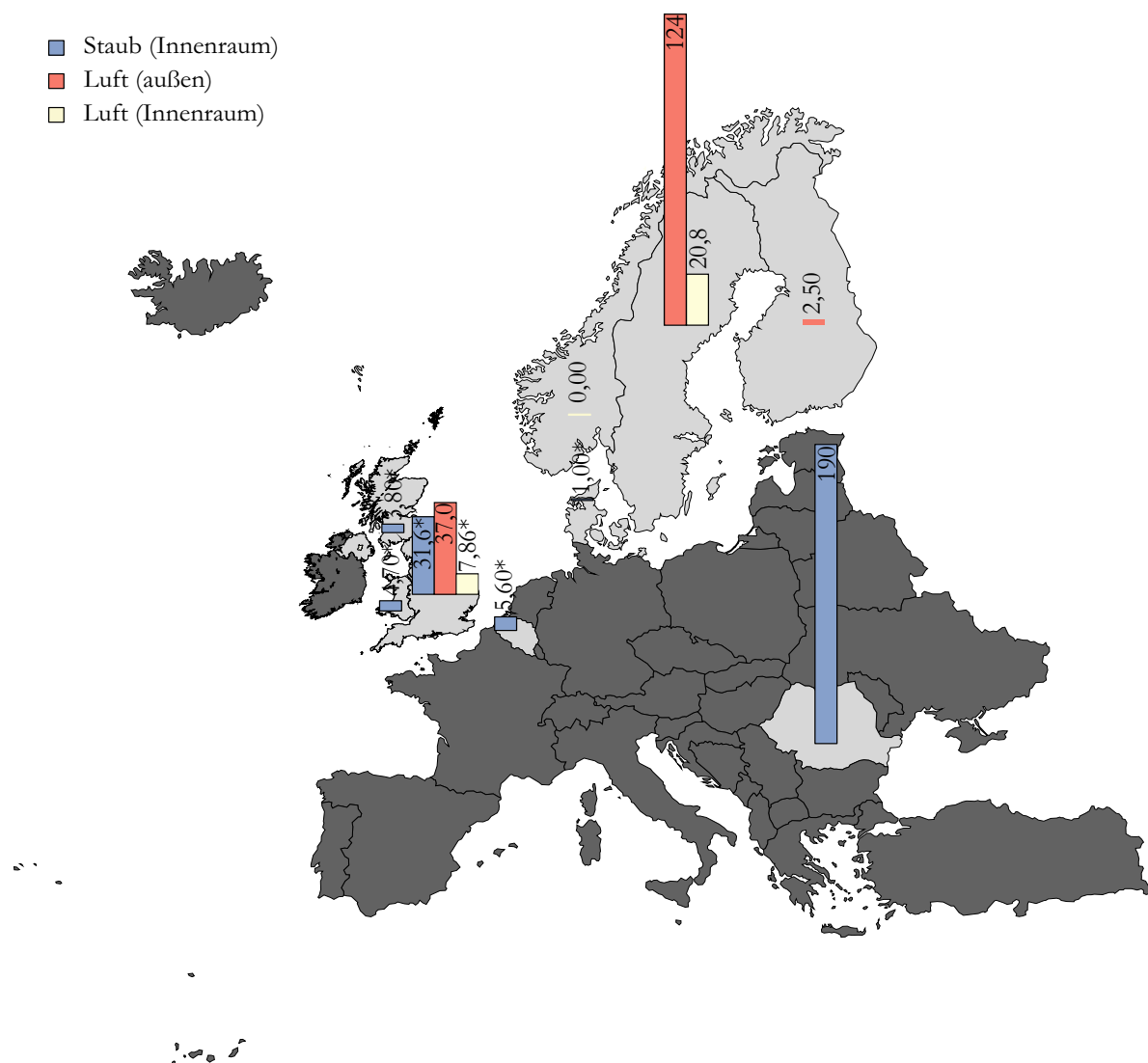


Abbildung 7: Mittlere HBCD-Kontaminationen in Hausstaub (pg m^{-3}) und Luft (ng g^{-1}) verschiedener europäischer Länder. Mit * gekennzeichnete Werte sind in ng m^{-3} angegeben.

Eine weitere Studie, die sich mit den HBCD-Konzentrationen in englischen Restaurants, Bars, privaten Haushalten sowie Büroräumen befasste, ergab Werte von bis zu 1.300 pg m^{-3} (Mittelwert 786 pg m^{-3} , Abbildung 7; [152]). Die Aufnahme von HBCD über die Raumluft bzw. über luftgetragene Partikel (Hausstaub) spielt somit beim Menschen, insbesondere bei Kleinkindern (Staubaufnahme: $\approx 200\text{ mg}$ Staub/Tag), eine bedeutende Rolle und stellt daher einen wesentlichen Expositionspfad dar [152].

In Staubproben belgischer, schwedischer, japanischer, kanadischer und US-amerikanischer Haushalte wurden HBCD-Gehalte von bis zu 130.200 ng g⁻¹ dw (*dry weight*, bezogen auf das Trockengewicht) nachgewiesen [73,151,154-158]. Andere Studien untersuchten die Gehalte von HBCD in 18 Büroräumen (3-3.700 ng g⁻¹ dw) [159] sowie in Büroräumen, Schulen, Autoinnenräumen, Restaurants, Hotels, Bars und Privathaushalten verschiedener EU-Mitgliedsstaaten (Abbildung 7; [152,153,160-166]). Hierbei ergaben Staubproben englischer Privathaushalte die höchsten HBCD-Kontaminationen mit weit über 100.000 ng g⁻¹ dw [152,155,162,164]. Mit Ausnahme der Arbeiten von Dirtu und Covaci [165], die Staubproben rumänischer Haushalte untersuchten (190 pg m⁻³), wurden bislang keine Studien bezüglich der HBCD-Kontaminationen im ost-europäischen Raum veröffentlicht (Tabelle A1).

2.8.2.3 Boden, Sediment und Klärschlamm

Die abiotischen Kompartimente Boden, Sediment und Klärschlamm stellen aufgrund ihrer Beschaffenheit eine Senke für hydrophobe Verbindungen dar, sodass u. a. auch in diesen HBCD nachgewiesen werden kann (Abbildung 8).

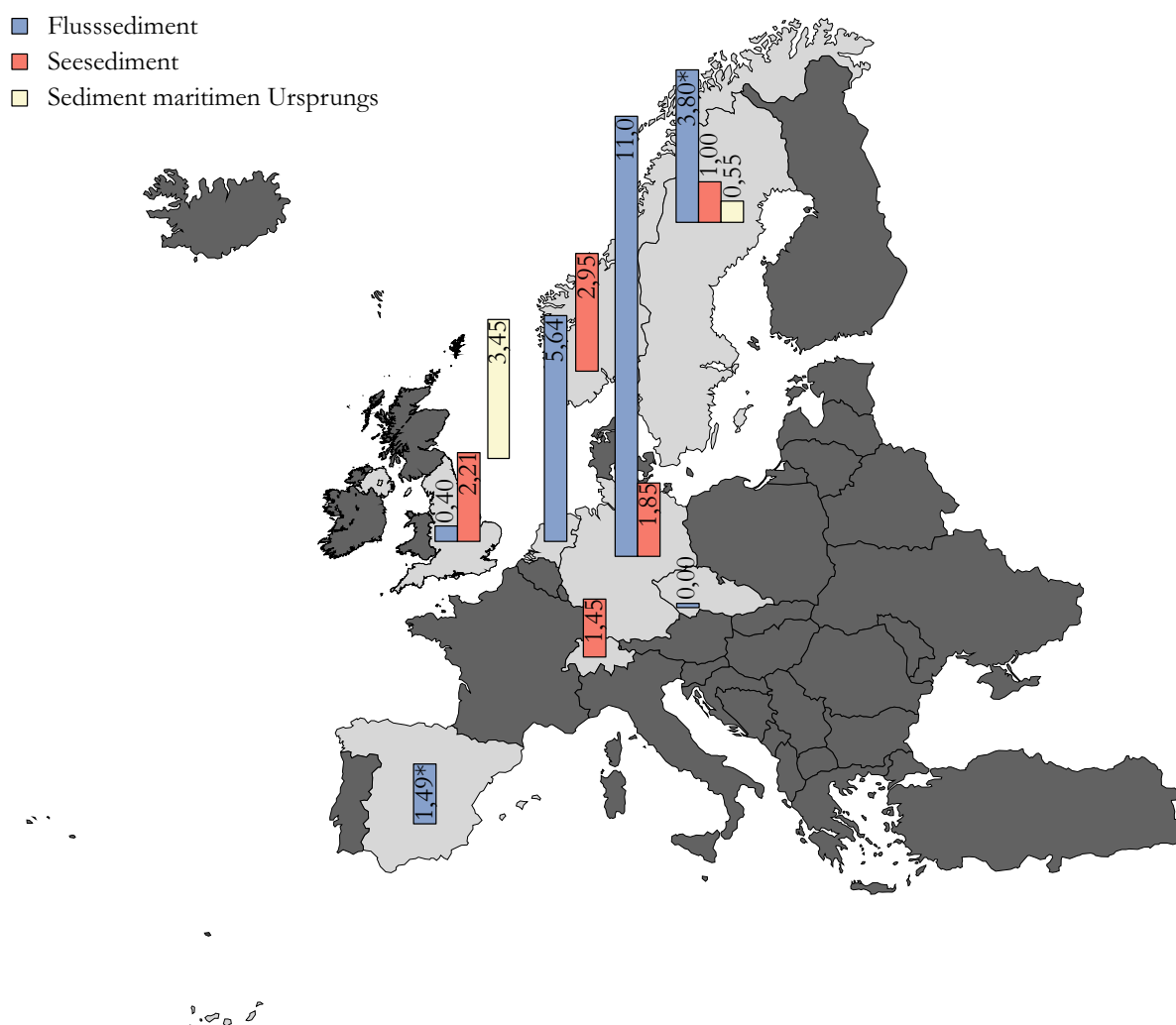


Abbildung 8: Mittlere HBCD-Gehalte diverser europäischer Sedimentproben (ng g⁻¹ bzw. µg m⁻³ (*)).

Die in China ermittelten HBCD-Gehalte in Bodenproben eines Kunststoff-Recyclinghofes reichen bis 284 ng g⁻¹ dw [65,102,141,167,168]. In ländlichen/naturbelassenen Gebieten abseits potentieller Emissionsquellen liegen die Gehalte hingegen bei maximal 145 ng g⁻¹ dw. Die bislang einzigen verfügbaren Daten für Europa stammen von Proben, die in unmittelbarer Umgebung potentieller Emissionsquellen in verschiedenen EU-Mitgliedsstaaten genommen wurden. Die ermittelten Gehalte

liegen daher mit Werten von $\geq 23.200 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ erwartungsgemäß signifikant höher als diejenigen vergleichbarer Untersuchungsergebnisse [50].

Von den genannten abiotischen Kompartimenten stellt Sediment das bezüglich der HBCD-Gehalte mit Abstand am besten untersuchte Kompartiment dar. Verschiedene Untersuchungen befassten sich mit der HBCD-Belastung im Oberflächensediment mehrerer europäischer Flusssysteme, jeweils flussauf- und flussabwärts potentieller Emissionsquellen [132,169,170]. Die HBCD-Gehalte der flussaufwärts genommenen Proben lagen alle unterhalb der Nachweisgrenzen, wohingegen die Gehalte flussabwärts zwischen ein bis vier Dekaden höhere Werte aufwiesen. Durch erst kürzlich publizierte Untersuchungen von Flusssediment in unmittelbarer Nähe einer Textilfabrik in den USA (North Carolina) fanden diese Beobachtungen eine aktuelle Bestätigung. Hier konnten HBCD-Gehalte von bis zu $389.000 \text{ ng g}^{-1}$ (bezogen auf den Glührückstand) ermittelt werden, wohingegen die Belastungen mit zunehmender Entfernung flussabwärts des Standortes abnahmen [171]. In von Emissionsquellen unabhängigen Untersuchungen von Flusssedimentproben waren HBCD-Gehalte von bis zu $1.678 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ nachweisbar [112], während in Seesedimenten deutlich geringere Gehalte ermittelt wurden ($<3 \text{ ng g}^{-1}$). In Deutschland, England, Norwegen, Schweden und der Schweiz liegen die durchschnittlichen Belastungen in Seesedimenten mit $3,7 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ etwa zweieinhalb Dekaden niedriger als im Vergleich zu Flusssedimenten [61,63,72,103,113,132]. Auffallend ist, dass die weltweit untersuchten Sedimentproben von Binnengewässern alle ein ähnliches Niveau an HBCD-Gehalten aufweisen, wohingegen die HBCD-Gehalte in Sedimenten marinen Ursprungs eine deutliche Variation zeigen (Tabelle A2). Während die HBCD-Belastung an den japanischen, koreanischen und schwedischen Küsten sowie in der Nordsee mit Werten bis zu $59 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ relativ gering sind, wurden in Norwegen bis zu $86,4 \text{ ng g}^{-1}$ sowie in der Barent See bis zu $191 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ identifiziert [113,172-176]. Des Weiteren wurde festgestellt, dass Sediment, welches außerhalb der Gezeitenzone ($\geq 10 \text{ m}$ Meerestiefe) gesammelt wurde, höhere HBCD-Kontaminationen, vermutlich aufgrund der mit den geringeren Wellenbewegungen einhergehenden erhöhten Depositionsraten, aufweist [175].

Als Resultat eines unkontrollierten Eintrags polybromierter Flammenschutzmittel aus den entsprechenden Produkten in das Abwassersystem, ist auch HBCD in Klärschlamm nachzuweisen. Über den Einsatz dieses Schlammes in der Landwirtschaft erfolgt eine Belastung des Boden-Sediment-Kompartiments und weitergehend der aquatischen und/oder terrestrischen Nahrungskette [142]. Untersuchungen zeigten, dass die Belastung der Klärschlammproben mit bis zu $9.120 \mu\text{g g}^{-1} \text{ dw}$ wie sie in Irland nachgewiesen wurden, die höchsten Gehalte aller bislang untersuchten Umweltproben aufwiesen. Die ermittelten Gehalte sind jedoch in ihrem Niveau nicht konsistent. Während untersuchte Klärschlammproben aus den Niederlanden, England und Irland entsprechend hohe Werte aufwiesen, wurden in Schweden, der Schweiz, Spanien und der Tschechischen Republik geringere Gehalte ($\leq 0,6 \mu\text{g g}^{-1} \text{ dw}$) ermittelt (Tabelle A3).

2.8.2.4 Wirbellose, Fische und marine Säugetiere

HBCD wurde bereits in den verschiedensten Stämmen aquatischer wirbelloser Tiere wie Gliederfüßer, Würmer und Mollusken nachgewiesen (Tabelle A4). Die höchsten Kontaminationen wurden in norwegischen Krabben ($\leq 1.200 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$), Miesmuscheln (*Mytilus edulis*; $\leq 1.800 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$) sowie Wattwürmern (*Arenicola marina*; $\leq 14.000 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$) gefunden, wobei diese Gehalte auf Punktquellen zurückgeführt werden konnten [175]. Japanische Austern (*Ostreidae*) vor Osaka waren ebenfalls mit Gehalten von bis zu $5.200 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ belastet [177]. Hierbei waren im westlichen Teil Japans auch deutlich höhere Gehalte weiterer Umweltkontaminanten wie PBDEs und PCBs nachweisbar. Ursache hierfür könnten die mit der industriellen Ballungsdichte dieser Region zusammenhängenden hohen Emissionsraten umweltrelevanter Verbindungen sein [177]. Mit Ausnahme dieser Extremwerte weisen Wirbellose in Gewässerregionen stets niedrigere HBCD-Gehalte als die dort lebenden Fischarten auf, was als ein klares Indiz für eine Biomagnifikation des HBCDs innerhalb der Nahrungsketten angesehen werden kann [134,178].

Im Hinblick auf Süßwasserfisch und marinen Fisch liegen diverse Analysendaten hinsichtlich der HBCD-Kontaminationen in industrialisierten und ländlichen Regionen vor. Wie auch bei den Wirbellosen reicht der Bereich der ermittelten HBCD-Gehalte über vier bis fünf Dekaden (Tabelle A4). Die auftretende Spannweite kann ebenfalls auf die unterschiedliche HBCD-Exposition der einzelnen Spezies, beruhend auf möglichen Punkt-Emissionsquellen zurückgeführt werden, wobei im Gegensatz zu den Wirbellosen das trophische Niveau der jeweiligen Spezies hierbei eine nicht unerhebliche Rolle spielen dürfte. Die höchsten Gehalte in Süßwasserfisch wurden im Filet von Bachforelle (*Salmo trutta fario*; 6,76 $\mu\text{g g}^{-1}$ lw) und Brasse (*Abramis brama*; 14,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ lw), Hecht (*Esox lucius*; 8,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ lw) sowie europäischem Aal (*Anguilla anguilla*; 10,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ ww) in der Nähe bekannter möglicher HBCD-Emissionsquellen in England, Schweden und Belgien ermittelt (Tabelle A5; [169,179-181]). Im Gegensatz zu diesen räuberisch lebenden Süßwasserspezies wiesen Karpfen, welche im Osten der USA in den Jahren 2006 und 2007 gefangen wurden, mit bis zu 4,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ lw ebenfalls sehr hohe Gehalte an HBCD auf [182]. Weiterführende Untersuchungen an Fischen verschiedener Flusssysteme ergaben übereinstimmend mit den in Kapitel 2.7.4.3 vorgestellten Ergebnissen von Flusssedimenten für flussabwärts einer Emissionsquelle lebende Vertreter einer Spezies deutlich erhöhte Gehalte im Vergleich zu ihren flussaufwärts lebenden Artgenossen [179,183].

Vergleichbare Studien an marinem Fisch resultierten ebenfalls in über mehrere Dekaden streuenden HBCD-Gehalten, wobei die mittleren Gehalte deutlich niedriger lagen als bei den untersuchten Süßwasserspezies. So erstrecken sich beispielsweise die Gehalte in Filets des Atlantischen Herings (*Clupea harengus*) von 1,5 bis 180 ng g^{-1} lw (Tabelle A6). Die höchsten bisher ermittelten Gehalte ($>1 \mu\text{g g}^{-1}$ lw) stammen von Seezungen der niederländischen Küste bzw. von Kabeljau (*Gadus morhua*) und Sternrochen (*Amblyraja radiata*) eines norwegischen Fjordes ([138,145]). Die Hauptursachen für die auftretenden Schwankungsbreiten der HBCD-Kontaminationen in marinem Fisch liegen vor allem in den regionalen Unterschieden begründet. So berichteten Asplund *et al.* von signifikanten Gehaltsunterschieden im Hering der Ostsee. Die Autoren beschreiben in diesem Fall ein Gefälle der auftretenden HBCD-Gehalte in nördlicher Richtung, wobei vermutet wurde, dass die industriellen HBCD-Emissionen hierbei eine ausschlaggebende Rolle spielen [184].

Der mit Abstand umfangreichste Datensatz untersuchter mariner Säugetiere in industrialisierten Regionen basiert auf gestrandeten oder durch Beifang (ungewollter Teil des Fischfangs) gesammelten Gewöhnlichen Schweinswalen (*Phocoena phocoena*) an der Küste Großbritanniens (Tabelle A7; Abbildung 9). Die durchschnittlichen HBCD-Gehalte in zwischen den Jahren 2000 und 2006 beprobtem Fettgewebe betrugen zwischen 135 und 1.705 ng g^{-1} lw mit einem Maximum in den Jahren 2001-2003 [185,186]. Zegers *et al.* bestätigten diese Befunde durch Untersuchungen an zwischen 2000 und 2003 an den Küsten vor Irland und Schottland bzw. bei Galizien (Spanien) beprobten Walen der gleichen Art [137]. Während in Irland und Schottland die Spezies an der Küste strandeten und Proben den verendeten Tieren entnommen wurden, erfolgte die Beprobung der Wale in Galizien anhand von Tieren, die als Beifang angelandet wurden. Die bei Galizien genommenen Fettgewebeproben ergaben hierbei im Vergleich signifikant geringere HBCD-Gehalte. Als mögliche Ursache führten Zegers *et al.* die noch bis ins Jahr 2003 betriebene HBCD-Produktionsstätte im Nordosten Englands an [185,186]. Die geringsten HBCD-Kontaminationen in europäischen Säugetieren mit einem Mittelwert von 36,4 ng g^{-1} lw wurden im Fettgewebe von Seehunden (*Phoca vitulina*) der norwegischen Küstenregion ermittelt [68]. Aufgrund der bemerkenswert hohen HBCD-Befunde im Bereich der britischen Inseln liegen die in Europa ermittelten HBCD-Gehalte für Säugetiere im weltweiten Vergleich am höchsten (Abbildung 10). So wurden beispielsweise geringere Gehalte in Fettgewebeproben von Großen Tümmlern (*Tursiops truncatus*; 7,38 ng g^{-1} lw) vor der Küste Floridas (USA) [187] sowie im Fett- und Lebergewebe des Weißseitendelfins (2,9-380 ng g^{-1} lw) an der Ostküste der USA nachgewiesen [96]. Ähnlich niedrige Gehalte (Mittelwert: 57 ng g^{-1} lw) wurden im Fettgewebe von Zwergwalen (*Balaenoptera acutorostrata*) gemessen, welche im Pazifik nahe der japanischen Küste gefangen wurden [188].

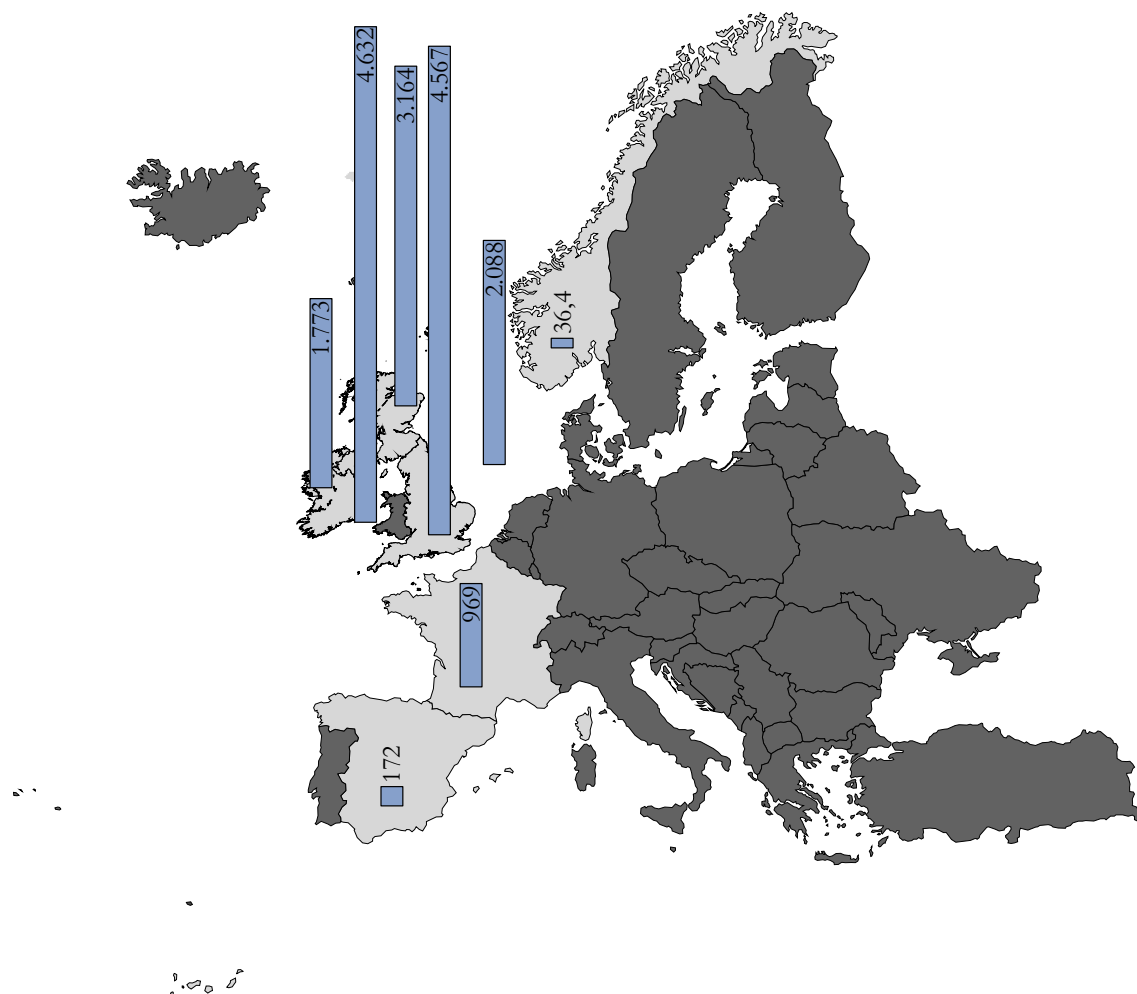


Abbildung 9: Gemittelte HBCD-Gehalte (ng g⁻¹ lw) mariner Säuger im europäischen Raum.

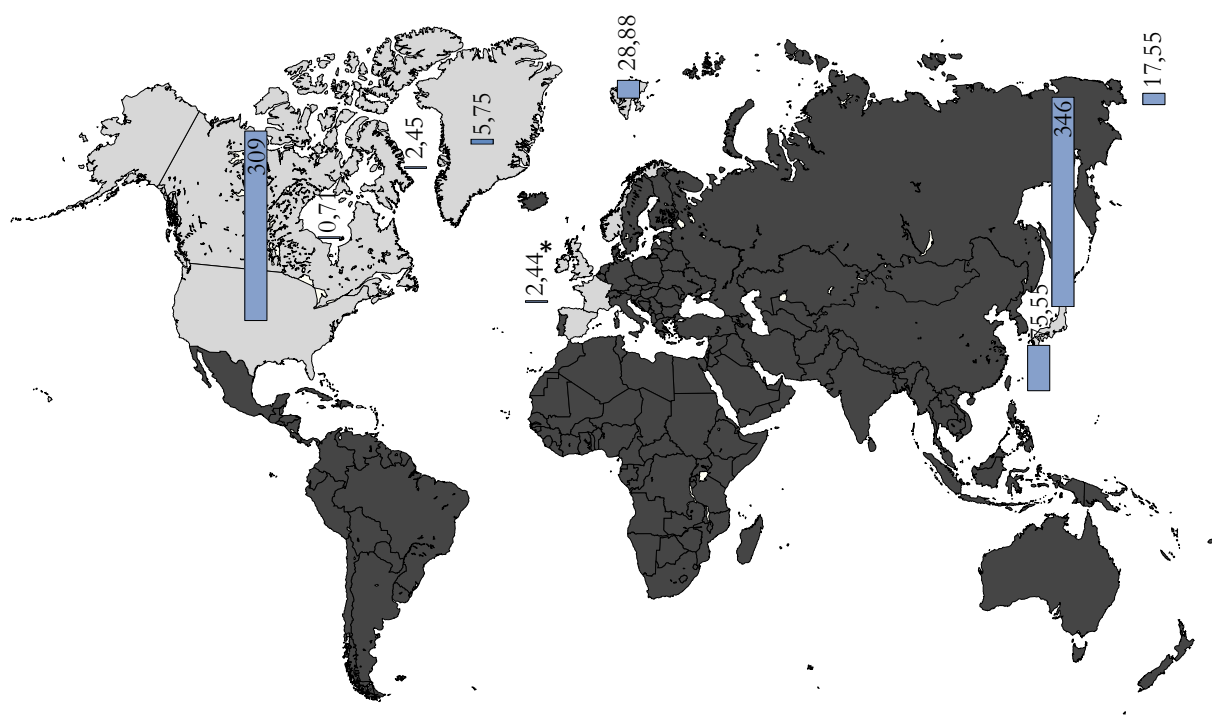


Abbildung 10: Globale Darstellung von mittleren HBCD-Kontaminationen mariner Säugetiere in ng g⁻¹ lw. Mit * gekennzeichnete Werte sind in µg g⁻¹ lw angegeben.

In Walrössern, Weiß- und Narwalen [189] sowie in Ringelrobben (*Pusa hispida*) [71] der arktischen Regionen wurden ebenfalls nur geringe HBCD-Kontaminationen gefunden. Fettgewebeproben von Walross, Weiß- und Narwal der östlichen Arktis wiesen Gehalte von bis zu 7,37 ng g⁻¹ lw auf [189], die damit unterhalb derer von Ringelrobben aus Spitzbergen lagen (14,6-35,5 ng g⁻¹ lw) [71].

2.8.2.5 Vögel

Bei der Untersuchung der Auswirkungen von Umweltverschmutzungen auf verschiedenste Ökosysteme werden Vögel, genauer deren Eier, bevorzugt als Bioindikatoren herangezogen. Sellström *et al.* berichteten von HBCD-Kontaminationen in Eiern der Trottellumme (*Uria aalge*) der Ostsee, welche über einen Zeitraum von 32 Jahren (1969-2001) gesammelt wurden [190]. Die Gehalte lagen hierbei in einem weiten Bereich zwischen 34 und 170 ng g⁻¹ lw (Tabelle A8, Abbildung 11).

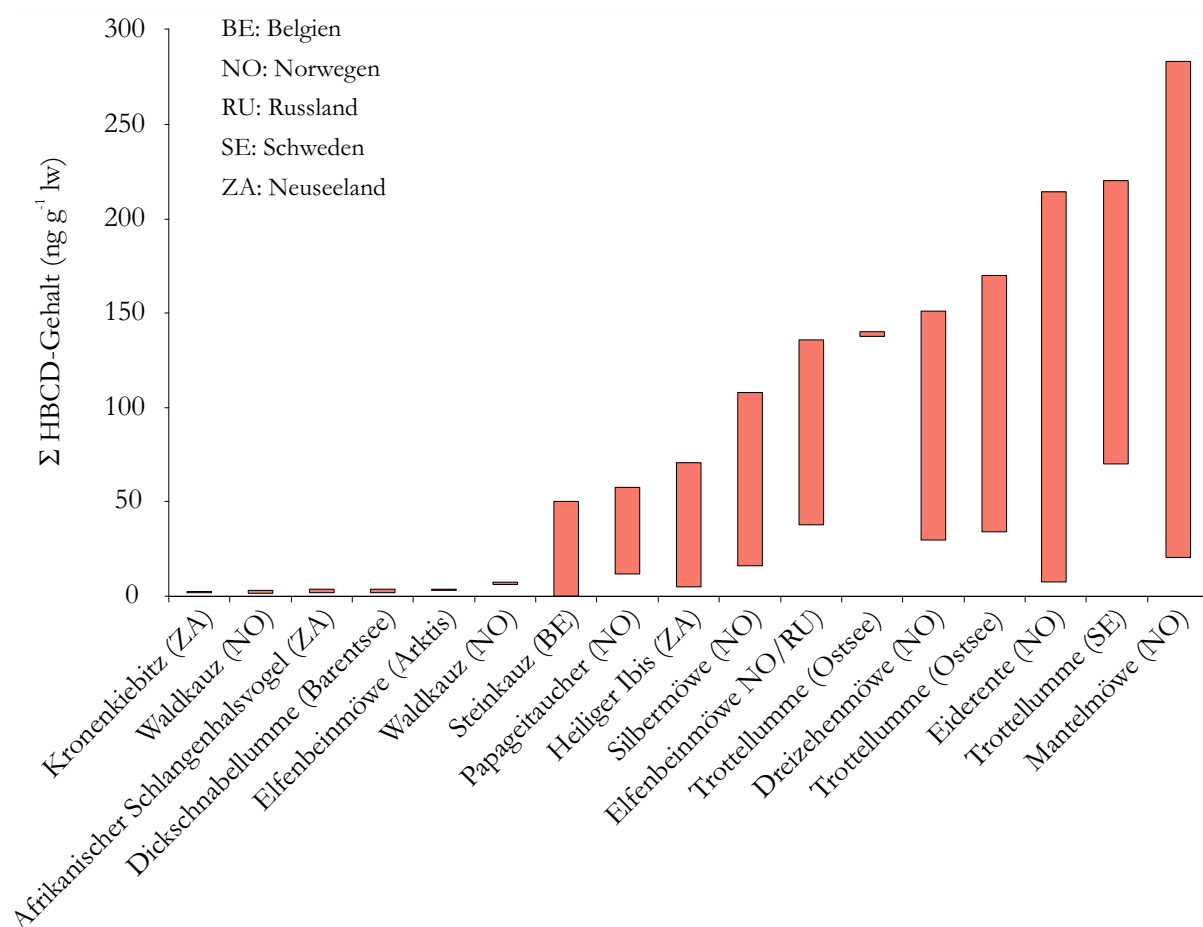


Abbildung 11: HBCD-Gehaltsbereiche (ng g⁻¹ lw) in Vogeleiern von sich von Insekten bzw. kleinen Säugetieren ernährenden Spezies. Bezeichnungen in Klammern beschreiben die geographische Angabe der Probenahme-region. Die Daten basieren auf den in Kapitel 7 aufgeführten Studien.

Auf die zeitliche Entwicklung dieser Gehalte soll in Kapitel 2.7.4.9 näher eingegangen werden. Deutlich geringere Gehalte als die von Sellström *et al.* beschriebenen wurden in Eiern weiterer, sich überwiegend von Insekten und kleineren terrestrischen Säugetieren ernährenden Spezies wie der Dickschnabellumme (*Uria lomvia*), der Elfenbeinmöwe (*Pagophila eburnea*) und dem Kronenkiebitz (*Vanellus coronatus*) nachgewiesen [174,191,192]. Die HBCD-Kontaminationen dieser in der Barent See, der kanadischen Arktis sowie in Südafrika heimischen Spezies lagen zwischen 1,5 und 3,8 ng g⁻¹ lw. In Eiern des Wanderfalken aus Schweden, Großbritannien und Grönland sowie des Seeadlers (*Haliaeetus albicilla*) aus Schweden wurden um bis zu drei Dekaden höhere Gehalte ermittelt (Abbildung 12). Bei genauerer Betrachtung ist festzustellen, dass räuberisch lebende Vögel grundsätzlich höhere HBCD-Gehalte aufweisen, als ihre sich von Insekten und kleineren Säugetieren ernährenden Artverwandten. Eine Ausnahme stellen hierbei

Untersuchungsergebnisse an im Jahr 2001 am niederländischen Fluss Schelde gesammelten Eiern der Flussseseschwalbe dar [112], die mit 330 bis 7.100 ng g⁻¹ lw deutlich erhöhte Gehalte aufwiesen. Bei der Flussseseschwalbe handelt es sich um eine überwiegend in Mitteleuropa verbreitete Vogelart, welche sich durch Stoßtauchen von kleineren Fischen sowie von Insekten und Weichtieren ernährt. Im Vergleich dazu jagt der Seeadler Fische, Wasservögel aber auch Kaninchen und Feldhasen. Somit lassen sich die hohen Gehalte der Flussseseschwalbe nicht allein mit einer Biomagnifikation des HBCDs über die Nahrungskette begründen.

Eine mögliche Erklärung ergibt sich bei Betrachtung weiterer Untersuchungen von Fischen oder Wirbellosen aus dem Fluss Schelde bezüglich ihrer HBCD-Kontaminationen. So wurden in gefangenen Garnelen HBCD-Gehalte von bis zu 727 ng g⁻¹ lw und in Filets diverser Fischarten bis zu 1.100 ng g⁻¹ lw nachgewiesen [112,138,183], wobei diese Kontaminationen auf dort lokalisierte Punkt-Emissionsquellen zurückzuführen sind. Da diese Spezies den Flussseseschwalben als Nahrung dienen, ist es denkbar, dass die ermittelten hohen HBCD-Gehalte der Flussseseschwalben in deren regionaler Ernährung begründet liegen. Guerra *et al.* publizierten erst kürzlich eine Studie über die Untersuchung von Eiern des Wanderfalken (*Falco peregrinus*) aus Kanada und Spanien. Mit HBCD-Gehalten von bis zu 15.000 ng g⁻¹ lw stellen diese bis zum jetzigen Zeitpunkt die höchsten bekannten Belastungen in Vogeleiern dar [193]. Der Probenpool setzte sich bei diesen Untersuchungen aus Eiern unterschiedlicher Regionen (mehrere 100 km voneinander entfernt) zusammen, sodass keine Rückschlüsse auf evtl. Emissionsquellen oder ein bestimmtes Ernährungsverhalten der Tiere gezogen werden können. Weiterhin wurde HBCD sowohl im Lebergewebe von Kormoranen aus England und Wales (1.086-1.319 ng g⁻¹ lw) sowie von Eismöwen (*Larus hyperboreus*) und Eissturmvögeln (*Fulmarus glacialis*) aus Norwegen ($\leq 61,6$ ng g⁻¹ lw) als auch im Blutplasma von Eismöwen aus Norwegen ($\leq 2,07$ ng g⁻¹ lw) und im Dottersack diverser Vogelspezies (≤ 1.110 ng g⁻¹ lw) bestimmt (Tabelle A8).

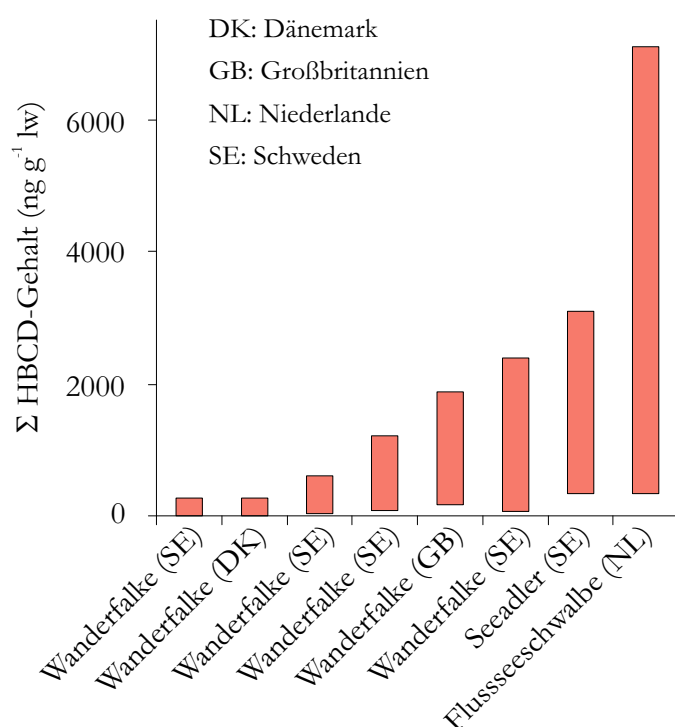


Abbildung 12: HBCD-Gehaltsbereiche (ng g⁻¹ lw) in Vogeleiern räuberisch lebender Spezies mit geographischer Angabe der Probenahme-region. Die Daten basieren auf den in Kapitel 7 aufgeführten Studien.

2.8.2.6 Land-Säugetiere

Bis heute ist nur wenig über die Kontaminationsniveaus von terrestrischen Säugetieren bekannt, da der wissenschaftliche Fokus vornehmlich auf aquatischen Organismen sowie Vögeln liegt. Einige Untersuchungen beschreiben HBCD-Kontaminationen in einem der größten an Land lebenden Raubtiere, dem Polarbären (*Ursus maritimus*) [71,85,120,122]. In Spitzbergen wurden hierbei mit bis zu 278 ng g⁻¹ lw die höchsten Gehalte im Fettgewebe terrestrisch lebender Säugetiere nachgewiesen [85]. Polarbären befinden

sich auf einem hohen trophischen Niveau der arktischen Nahrungskette und ernähren sich überwiegend von verschiedenen Robbenspezies, jagen aber auch Fisch und kleinere an Land lebende Säugetiere. Daher ist es durchaus vorstellbar, dass die ermittelten HBCD-Belastungen auf eine Anreicherung über die aquatische Nahrungskette zurückzuführen sind. Im Gegensatz hierzu untersuchten Kunisue *et al.* Leber- und Fettgewebe von Marderhunden aus verschiedenen Regionen Japans und ermittelten hierbei HBCD-Gehalte im Bereich zwischen 0,2 und 29 ng g⁻¹ lw (Tabelle A9; [194]). Da sich die zu den Allesfressern zählenden Marderhunde überwiegend von Mäusen, Schnecken und Insekten aber auch von Beeren, Obst und Nüssen ernähren, ist ein direkter Vergleich der HBCD-Gehalte mit denen des Polarbären aufgrund des deutlich verschiedenen Ernährungsverhaltens sowie der unterschiedlichen Lebensräume nicht sinnvoll.

2.8.3 Vorkommen von HBCD in Humanproben und Lebensmitteln

2.8.3.1 Humanproben

Die Exposition des Menschen mit HBCD kann dermal, oral oder inhalativ über verschiedene Quellen wie der Nahrung, dem Staub und der Luft erfolgen [134,166,195,196]. Mehrere Studien, die sich mit unterschiedlichen Humanmatrices beschäftigten, ergaben eine global und regional auf die ernährungsbedingten Unterschiede bzw. dem Vorliegen potentieller Emissionsquellen zurückzuführende Variation der jeweiligen HBCD-Gehalte. So wurden HBCD-Kontaminationen in Humanmilchproben aus Schweden (0,2-10 ng g⁻¹ lw), Norwegen (0,2-20 ng g⁻¹ lw) [134,197], Nordamerika (0,3-10 ng g⁻¹ lw; [198]), Japan (1-4 ng g⁻¹ lw; [53]) und Russland (0,2-1,7 ng g⁻¹ lw; [199]) quantifiziert (Tabelle A11). In Brustmilchproben aus Spanien wurden mit bis zu 188 ng g⁻¹ lw die bislang höchsten HBCD-Gehalte nachgewiesen [89]. Darüber hinaus wurden erstmals Humanproben der südlichen Hemisphäre (Ghana, Südafrika und Indien) auf HBCD-Belastung hin untersucht. Die mit bis zu 18 ng g⁻¹ lw recht hohen Gehalte sind bemerkenswert, da keine potentiellen Emissionsquellen in der näheren Umgebung ausfindig gemacht werden konnten [197,200,201].

In den Niederlanden wurde HBCD in mütterlichem ($\leq 7,4$ ng g⁻¹ lw) sowie in Nabelschnur-Serum (0,2-4,3 ng g⁻¹ lw) gefunden [202]. In Norwegen gesammelte Seren männlicher und weiblicher Probanden wiesen mittlere HBCD-Gehalte zwischen 2,6 und 4,1 ng g⁻¹ lw auf [82]. Ähnliche Gehalte (bis 7,5 ng g⁻¹ lw) wurden in Fettgewebeproben aus der Tschechischen Republik [203] sowie den USA (New York; $\leq 2,41$ ng g⁻¹ lw) ermittelt [187]. Bislang existieren keinerlei Untersuchungen hinsichtlich der HBCD-Kontamination humaner Proben aus der Arktis, sodass hier noch kein Vergleich der Gehalte möglich ist. Es ist jedoch damit zu rechnen, dass die dort ansässigen Inuit aufgrund ihrer mitunter noch immer traditionellen Lebens- und Ernährungsgewohnheiten starke HBCD-Belastungen aufweisen werden.

2.8.3.2 Lebensmittel

Gemäß Artikel 2 der EU-Verordnung 178/2002 handelt es sich bei Lebensmitteln um „alle Stoffe oder Erzeugnisse, die dazu bestimmt sind oder von denen nach vernünftigem Ermessen erwartet werden kann, dass sie in verarbeitetem, teilweise verarbeitetem oder unverarbeitetem Zustand von Menschen aufgenommen ... werden“ [204]. Entsprechend Artikel 3 dieser Verordnung werden als Lebensmittelunternehmen alle Unternehmen bezeichnet, gleichgültig, ob sie auf Gewinnerzielung ausgerichtet sind oder nicht und ob sie öffentlich oder privat sind, die eine mit der Produktion, der Verarbeitung und dem Vertrieb von Lebensmitteln zusammenhängende Tätigkeit ausführen [204]. Auf Basis dieser Definitionen werden nachfolgend alle von Lebensmittelunternehmen bezogenen Produkte als Lebensmittel definiert und deren HBCD-Gehalte sind zusammenfassend in den Tabellen A12-A15 (Kapitel 7) dargestellt.

Bislang konnten in einer Vielzahl von Lebensmitteln tierischen und pflanzlichen Ursprungs Rückstände von HBCD quantifiziert werden (Tabellen A12-A15). Die festgestellten Gehalte liegen hierbei meistens im unteren ng g⁻¹-Bereich und somit nahe der Bestimmungsgrenzen der jeweiligen Analysenverfahren. Hervorzuheben sind jedoch Untersuchungen an Hühnereiern aus Deutschland und Kanada [80,205], welche durch die ermittelten HBCD-Gehalte von bis zu 2.000 bzw. 1.110 ng g⁻¹ lw aus den übrigen

Studienergebnissen deutlich hervorstechen. Als mögliche Ursache für die auffällig hohen Kontaminationen können sowohl die Haltung der Hühner in kontaminierten Ställen (z. B. durch Verwendung von mit HBCD belasteten Dämmplatten) als auch der Einsatz von belasteten Futtermitteln angesehen werden. Weiterhin wurden, wie durch die bereits erörterten Umweltstudien (Kapitel 2.7.4.4) belegt ist, leicht erhöhte Werte in diversen Fischarten nachgewiesen, die für den menschlichen Verzehr bestimmt waren [99,206]. Grundsätzlich ist davon auszugehen, dass überwiegend fetthaltige Lebensmittel tierischer Herkunft wie Fleisch oder Fisch zur HBCD-Exposition des Menschen über die Nahrung beitragen [140,207]. Dieser Annahme entsprechend korrelieren die im Rahmen von Blutuntersuchungen ermittelten hohen HBCD-Gehalte der norwegischen Bevölkerung mit den ernährungskulturell bedingten Verzehrsmengen an Fisch [54,208]. Die in der Literatur beschriebenen Kontaminationen von Gemüse und pflanzlichen Ölen mit HBCD könnten von der Verwendung belasteter Klärschlämme als Dünger herrühren [81].

2.8.4 Chronologische Entwicklung der HBCD-Gehalte in abiotischen und biotischen Matrices

Abiota

Bohrkernproben aus Sediments- Gesteins- oder Eisschichten stellen ein nützliches Werkzeug dar, um den chronologischen Verlauf der Gehalte diverser Umweltkontaminanten nachzuvollziehen. Allerdings existieren bislang nur wenige Studien, die sich mit der Erstellung historischer Kontaminationsprofile von HBCD-Gehalten beschäftigten [61,113,173,209]. In Sedimentbohrungen des schweizerischen Greifensees konnten in der dem Jahr 2001 zugeordneten Sedimentschicht HBCD-Belastungen von bis zu $2,5 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ bestimmt werden [61]. Unter Berücksichtigung der übrigen Sedimentschichten des untersuchten Bohrkerne konnten die Autoren einen deutlichen Anstieg der HBCD-Gehalte von 1982 bis 2001 ableiten (Abbildung 13A).

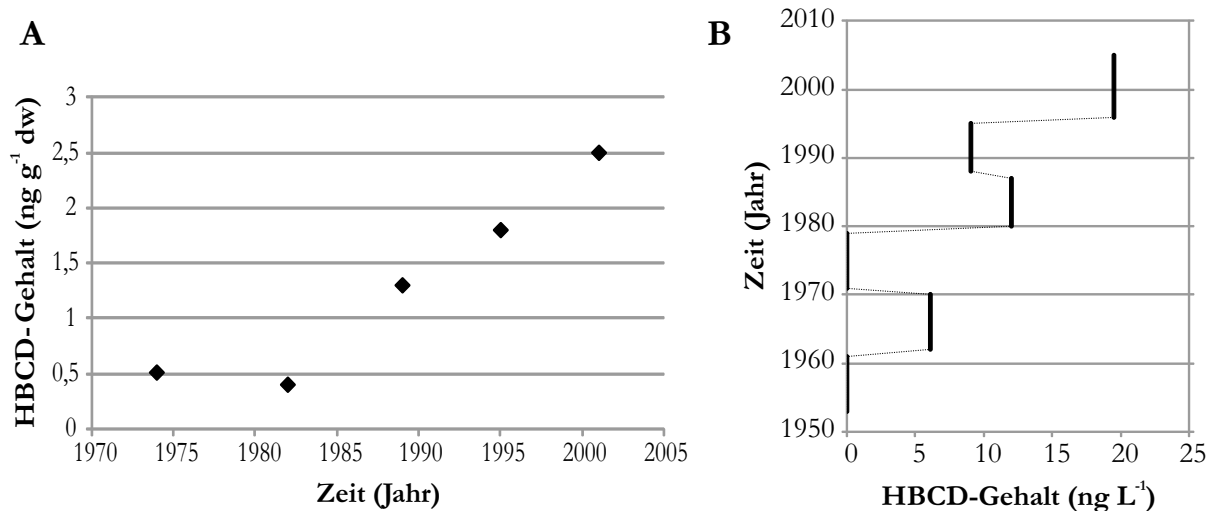


Abbildung 13: Zeitlicher Verlauf der HBCD-Gehalte in Sedimentproben (A; [61]) sowie innerhalb eines Eisbohrkernes (B; [209]).

Studien an schwedischen und japanischen Sedimentproben ergaben vergleichbare Ergebnisse [113,173]. Obwohl die in diesen Studien nachgewiesenen Absolutgehalte nahe der ubiquitären HBCD-Hintergrundbelastung lagen, zeigten die Sedimente aus der Schweiz einen signifikanten Anstieg mit einer Verdopplung der Gehalte innerhalb von acht Jahren. Allerdings sollten bei der Bewertung dieser zeitlichen Trends auch mögliche, bislang unbekannte bzw. ungeklärte Abbauprozesse in diesem Umweltkompartiment berücksichtigt werden. Mit dem Ziel, die zeitliche Entwicklung der HBCD-Kontaminationsniveaus zwischen 1953 und 2008 aufzuklären, untersuchten Hermanson *et al.* Eisbohrkerne aus Spitzbergen (Norwegen). Die ermittelten Kontaminationen entsprechen hierbei, infolge der teilweise nur schwer vorzunehmenden Abgrenzung der einzelnen (jährlichen) Sedimentschichten der Bohrkerprobe,

mittleren Gehalten von Zeitspannen (≤ 10 Jahre) und nicht jahresspezifischen Gehalten (Abbildung 13B; [209]). Auch hier konnte eine Verdopplung der mittleren Gehalte innerhalb der Zeitperioden 1986-1995 und 1996-2005 auf $19,53 \text{ ng L}^{-1}$ festgestellt werden. Es ist allerdings zu beachten, dass die ermittelten Gehalte mitunter nur geringfügig über dem Bereich der durch die HBCD-Hintergrundbelastung hervorgerufenen Analysenblindwerte ($7,28 \text{ ng L}^{-1}$) liegen. Somit ist auch die HBCD-Belastung zwischen den 1960er und 1970er Jahren zu erklären, obwohl in diesem Zeitraum HBCD noch keine Rolle als FSM spielte.

Biota in der Nähe von Punktemissionsquellen

Law *et al.* beschäftigten sich mit der chronologischen Entwicklung der HBCD-Gehalte im Fettgewebe von Schweinswalen in den Küstengewässern der britischen Inseln zwischen den Jahren 1994 und 2003 (Tabelle A7; [185]). Im Rahmen dieser Arbeit konnte ein signifikanter Anstieg der Gehalte innerhalb dieses Zeitraumes für gestrandete Schweinswale nachgewiesen werden. Weiterführende Daten von Artverwandten, welche in derselben Region zwischen 2003-2006 beprobt wurden, zeigten hingegen eine stetige Abnahme der HBCD-Gehalte ([186], Abbildung 14).

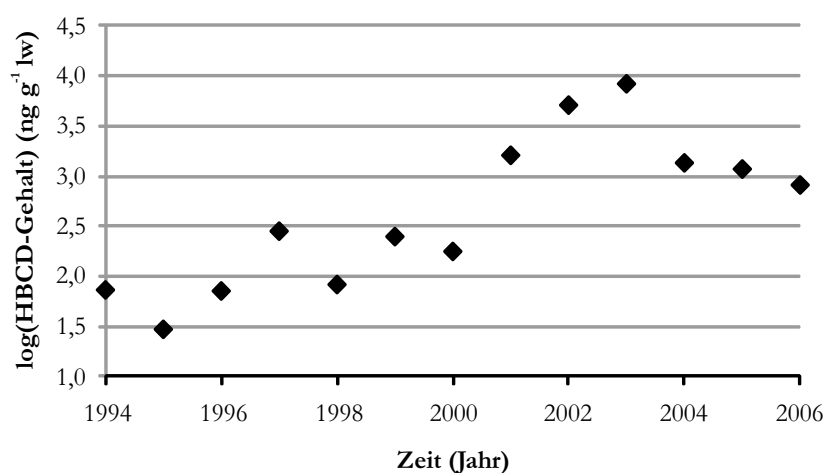


Abbildung 14:

Zeitlicher Verlauf der HBCD-Kontamination im Fettgewebe Gewöhnlicher Schweinswale aus Küstengewässern der britischen Inseln [186].

Ursache für die festgestellte Abnahme der HBCD-Gehalte ab dem Jahr 2003 könnte die Schließung eines HBCD-produzierenden Standortes im Nordosten Englands im selben Jahr sein. Da für den Gesamtzeitraum beider Studien keine Daten bezüglich der Emissionsmengen dieser Produktionsstätte vorliegen, kann keine Korrelation vorgenommen und somit kein konkreter Rückschluss bezüglich eines Zusammenhangs zwischen Schließung der Produktionsstätte und den sinkenden HBCD-Gehalten im Fettgewebe der Schweinswale vorgenommen werden.

Weitere Untersuchungen fanden an Trottellummeneiern (1969-2007) und Humanmilchproben (1980-2004) im Bereich der Ostsee und deren Anrainerstaaten statt [190,210]. Beide Studien konnten einen leichten, jedoch signifikanten Anstieg der HBCD-Gehalte zwischen 1980 und 1995 nachweisen. Über einen Zeitraum von 25 Jahren (zwischen 1979 und 2004) beprobten Ismail *et al.* Amerikanische Seesaiblinge (*Salvelinus namaycush*) des Ontariosees und konnten ein überwiegend konstantes HBCD-Level aufzeigen, wobei die höchsten Gehalte ($33 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$) den Proben aus dem Jahr 1979 zugeordnet werden konnten [88].

Biota abgeschiedener Regionen

Zeitverlaufsstudien über die HBCD-Belastung in Biota aus abgeschiedenen Regionen der Erde sind überwiegend für verschiedene Vogelspezies verfügbar. Hierzu zählen u. a. Silbermöwen, Papageitaucher und Dreizehenmöwe aus Norwegen (1983-2003) und der Wanderfalke aus Grönland (1986-2003) (Abbildung 15; [211,212]). Beide Studien zeigen allerdings keinen einheitlichen zeitlichen Verlauf. Während bei Silbermöwe, Papageitaucher und Dreizehenmöwe jeweils ein statistisch signifikanter Anstieg über die Jahre nachgewiesen werden konnte, beobachtete man bei Wanderfalken eine schwache, nicht-signifikante Abnahme der HBCD-Gehalte. Diese sowie die bereits erwähnten Daten zu Untersuchungen an Bachforellen des nordamerikanischen Ontariosees [88] und an Eiern der Elfenbeinmöwe [191], weisen

gemeinsam auf einen negativen Trend der HBCD-Gehalte hin. Möglicherweise reflektieren diese Studien verschiedene entfernt gelegene Expositionsquellen (z. B. in Nordamerika und in Europa) und ihren relativen Einfluss auf abgeschiedene Regionen. Allerdings fehlen zusätzliche Informationen, um hierüber genauere Aussagen treffen zu können.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass viele Untersuchungen über chronologische Verläufe hinsichtlich der HBCD-Kontaminationen in Biota unterschiedlicher Regionen kein einheitliches Muster erkennen lassen (Abbildung 15 und 16). Bei einigen Spezies stabilisieren sich die Belastungsniveaus auf einem konstanten Level (*Steady-State*), wobei die hierfür benötigte Zeit mit der Körpergröße des jeweiligen Organismus zu korrelieren scheint. Andere Arbeiten auf diesem Gebiet weisen hingegen auf vollkommen gegensätzliche Tendenzen hin. So wurden neben signifikanten Abnahmen auch bis in die aktuelle Zeit deutliche Zunahmen der HBCD-Gehalte beobachtet. Eine abschließende Aus- und Bewertung dieser sowie der abiotischen Daten kann daher nur vorgenommen werden, wenn Informationen hinsichtlich der vergangenen und gegenwärtigen Produktion, des Gebrauchs sowie der Emission von HBCD verfügbar gemacht werden. Darüber hinaus wären weiterführende detaillierte Kenntnisse bezüglich der Zeitverläufe der HBCD-Gehalte der umgebenden Kompartimente (Luft, Wasser oder Sediment) von großem Nutzen. So wären bspw. die Untersuchung von arktischem bzw. Gletschereis bezüglich der eingeschlossenen Luft sowie engmaschigere Sediment-Beprobungen in relevanten Kontaminationsgebieten zum Schließen einiger Datenlücken realisierbar, jedoch mit enormem Aufwand verbunden. Um für die Zukunft weniger lückenhafte Datensätze zum zeitlichen Verlauf der HBCD-Kontaminationen zu gewährleisten, wäre die Etablierung von weltweiten Monitoring-Programmen, bspw. nach dem Vorbild der Umweltprobenbank des Bundes, erstrebenswert. Aufgrund der jedoch zum jetzigen Zeitpunkt meist unvollständigen oder gänzlich fehlenden Informationen, ist eine Interpretation der zeitlichen Entwicklung der HBCD-Gehalte in der Umwelt äußerst schwierig bzw. in einigen Fällen sogar unmöglich.

2.9 Toxische Effekte von HBCD

2.9.1 Akute Toxizität

Die akute Toxizität von HBCD wurde in nur wenigen Studien durch dermale (Hase), orale (Ratte, Maus) und inhalative (Ratte) Expositionen untersucht. Hierbei wurde nach oraler Zugabe ein LD₅₀-Wert von >6.400 mg kg⁻¹ Körpergewicht (Maus) und 10.000 mg kg⁻¹ Körpergewicht (Ratte) ermittelt [213,214]. Bei einer Exposition mit höheren Dosen wurden Vergiftungserscheinungen wie Hyperaktivität, Diarrhö sowie eine Reduktion des Körpergewichts beobachtet. Nach Inhalation konnte eine erschwerte Atmung bei Ratten beobachtet werden. HBCD kann bei dermalen Vergabe Hautirritationen bei Ratten auslösen [215,216], wohingegen oral verabreichtes HBCD zu Hyperaktivität, verfilzten Haaren, gehemmter Oogenese, Apathie, Zittern und vereinzelt auch zum Tod führte [213,217].

Weiterhin wurde die biologische Toxizität an Zebrafisch-Embryonen untersucht, wobei anhand von Studien hinsichtlich des Hitzeschockproteins (Schutz vor Denaturierung) nachgewiesen werden konnte, dass HBCD oxidativen Stress verursachen kann und somit gegenüber Zebrafisch-Embryonen ein akut toxisches Potential aufweist [218]. Im Bereich zwischen 0,002 und 10 mg L⁻¹ konnte bei den Versuchstieren kein letaler Effekt festgestellt werden.

2.9.2 Toxikokinetik, Metabolismus und Verteilung von HBCD im Organismus

Die Resorption, Verteilung, Ausscheidung sowie die Metabolisierung von γ -HBCD wurde an Spargue-Dawley (SD)-Ratten nach einmaliger oraler Vergabe von ¹⁴C₁₂- γ -HBCD untersucht [216,219]. Aufgrund hoher Resorptionsraten über den Gastrointestinaltrakt ($t_{1/2} = 2$ h) konnten die höchsten Konzentrationen im Blut bereits vier Stunden nach der Gabe gemessen werden. Weiterhin war die Aufnahme in Fettgewebe, Leber, Niere, Lunge und Gonaden nachweisbar. Die höchsten Gehalte sowie die langsamste Eliminierungsrate konnten im Fettgewebe bestimmt werden.

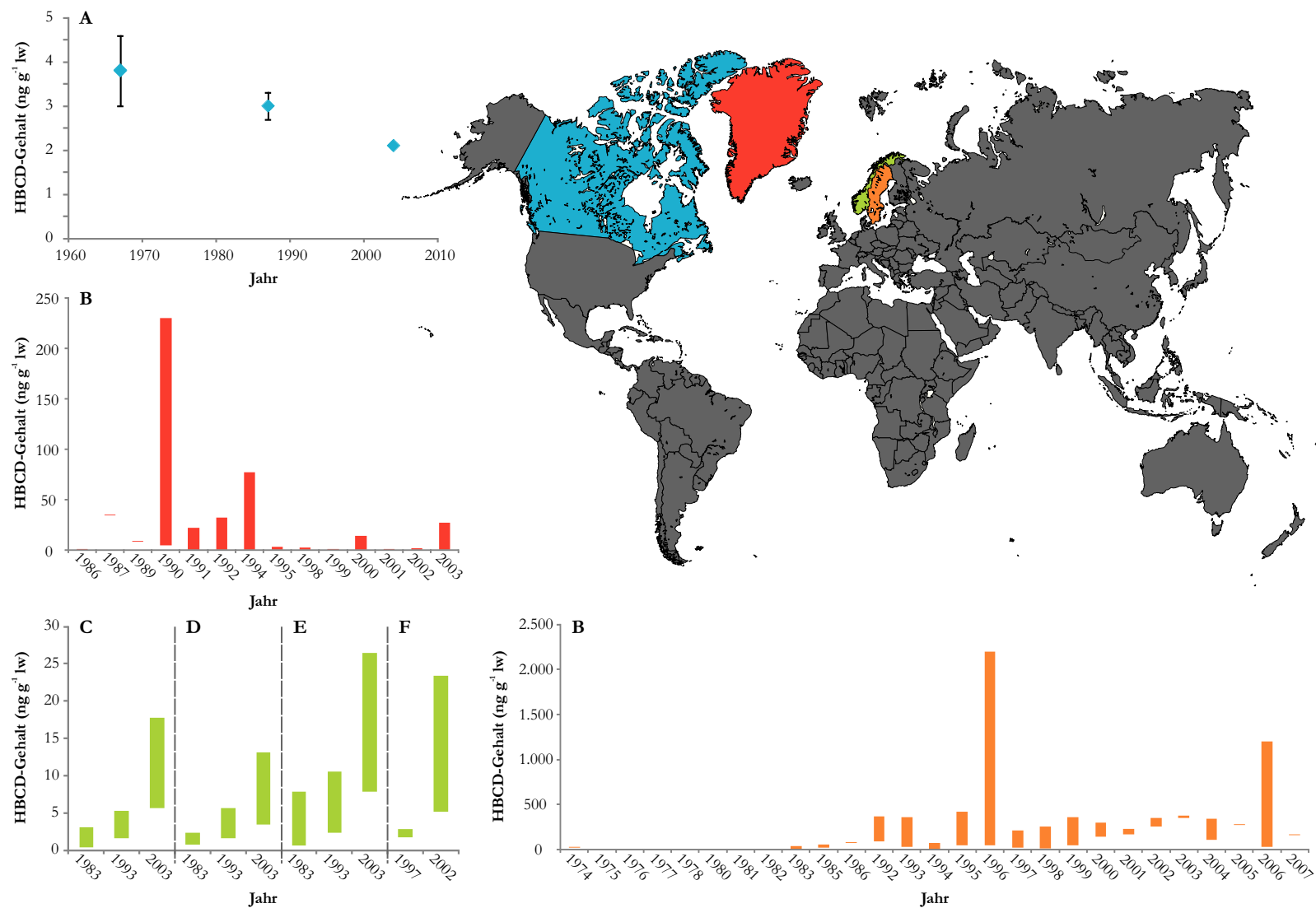


Abbildung 15: Zeitlicher Verlauf der HBCD-Kontamination (ng g⁻¹ lw) in Eiern von Elfenbeinmöwe (A; [191]), Wanderfalke (B; [212,220]), Silbermöwe (C; [211]), Papageitaucher (D; [211]), Dreizehenmöwe (E; [211]) sowie Eismöwe (F; [211]).

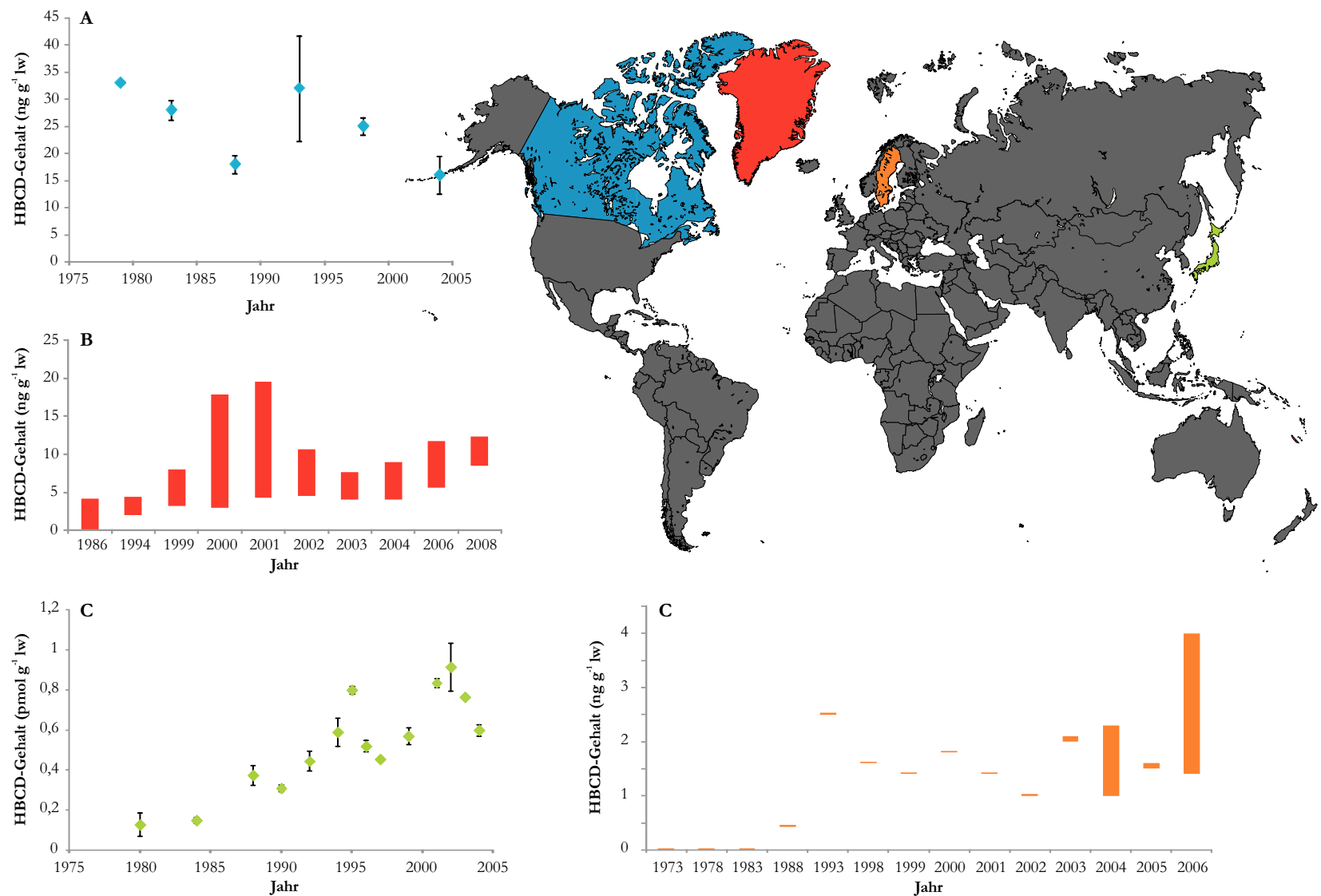


Abbildung 16: Zeitlicher Verlauf der HBCD-Kontamination ($\text{ng g}^{-1} \text{lw}$ bzw. $\text{pmol g}^{-1} \text{lw}$) im Forellenfilet (**A**; [88]) und im Fettgewebe der Ringelrobbe (**B**; [221]) sowie in Humanmilch (**C**; [53,210]).

Nach drei Tagen waren bereits 93 % des verabreichten HBCDs über die Ausscheidungen (hauptsächlich über die Fäces) der Versuchstiere aus dem Organismus entfernt. Weiterhin wurden vier Metabolite detektiert, deren Identifizierung mit Hilfe der DC jedoch nicht möglich war.

In Flundern (*Platichthys flesus*), die einer chronischen Exposition von technischem HBCD ausgesetzt waren, zeigte sich eine diastereomerenspezifische Akkumulation [222]. In Abhängigkeit der Aufnahmeart (dermal oder oral), konnte eine leichte bzw. starke Anreicherung des α -HBCDs relativ zu den übrigen Diastereomeren beobachtet werden. Eine Erklärung für diesen Befund versuchten Szabo *et al.* mit Hilfe weiterführender Studien zu finden [223,224]. Der Fokus lag hierbei auf den potentiellen Unterschieden in der Toxikokinetik bei der oralen Vergabe von $^{14}\text{C}_{12}$ - α - und - γ -HBCD an infantile Mäuse [223]. Es stellte sich heraus, dass α -HBCD in deutlich höheren Gehalten (90 % der verabreichten Dosis) in den untersuchten Gewebearten (Fettgewebe, Leber, Niere, Gehirn, Muskel, Haut, Lunge und Blut) akkumuliert. Die Disposition wird hierbei überwiegend von der Lipophilie der jeweiligen Gewebeart beeinflusst, sodass Szabo *et al.* im Fettgewebe und der Leber die höchsten Gehalte nachweisen konnten [224]. Weiterhin waren in den Fäces signifikante Gehalte an α -HBCD sowie dessen Metabolite feststellbar, während im Urin ausschließlich die α -HBCD-Metabolite detektiert werden konnten. Die nach oraler Exposition ermittelten Halbwertszeiten (bezogen auf den ganzen Körper) betrugen bis zu 17 Tage.

Die im Rahmen von Fischfütterungsversuchen an Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) errechneten Biomagnifikationsfaktoren lassen ebenfalls darauf schließen, dass α -HBCD mit steigendem trophischen Level das dominierende Diastereomer darstellt [135]. Nach Beendigung der Fütterungsphase konnte in den mit β - und γ -HBCD gefütterten Versuchsgruppen ein Anstieg der α -HBCD-Gehalte beobachtet werden, welcher eine Biointerkonvertierung im Rahmen des HBCD-Metabolismus nahelegt. Ähnliche Beobachtungen wurden von Fournier *et al.* beschrieben [225]. Deren Fütterungsstudie an Legehennen (*Gallus domesticus*) zeigte nach oraler Vergabe von γ -HBCD einen signifikanten Anstieg von α -HBCD in der Leber. Darüber hinaus untersuchten Fernie *et al.* die Eier des Buntfalken (*Falco sparverius*) nach oraler Exposition mit technischem HBCD und bestätigten die zuvor erwähnten Untersuchungsergebnisse [136]. Die Eier wiesen ein Verteilungsmuster der HBCD-Stereoisomere mit einem dominierendem α -HBCD auf, vergleichbar mit Monitoringdaten, welche in wilden Wanderfalkeneiern nachgewiesen wurden [193].

Wie bereits aus den beschriebenen Untersuchungen zu HBCD-Kontaminationen in Vogeleiern und Humanmilchproben deutlich wurde, gelangen diese auch in die nächste Generation. Die Untersuchung dieses Sachverhaltes war Gegenstand einer Studie mit Zebrafischen, deren Eigelege nach Exposition der Elterntiere untersucht wurden [226]. Die resultierenden positiven Befunde konnten auch durch Humanuntersuchungen bestätigt werden [202]. Meijer *et al.* untersuchten das Blutserum schwangerer Frauen und ihrer neugeborenen Kinder mit dem Ergebnis, dass HBCD auch über die Plazenta weitergegeben wird [202].

Bezüglich des Metabolismus von HBCD waren im Rahmen von *in vitro*-Ansätzen, auf Basis induzierter Rattenlebermikrosomen, diastereomerenspezifische Prozesse feststellbar, wobei β -, gefolgt von γ -HBCD den schnellsten Abbau aufwies und darüber hinaus auch monohydroxylierte Metabolite detektiert werden konnten [137]. Die aus den Untersuchungen resultierenden Ergebnisse korrelieren hierbei gut mit der in der Literatur beschriebenen Dominanz von α -HBCD in Biota (Kapitel 2.7.3). Die Bildung monohydroxylierter Verbindungen im Verlauf metabolischer Prozesse konnte ebenfalls von Hotalah *et al.* unter Verwendung von Lebermikrosomen sowie Hepatocyten der Regenbogenforelle bestätigt werden [93]. Bei diesen Ansätzen wurden unterschiedliche Abbauraten der Diastereomere, einhergehend mit einer Anreicherung des α -HBCDs, beobachtet.

Anhand von Fütterungsversuchen an Wistar-Ratten verdeutlichten Brandsma *et al.* das breite Spektrum potentieller Metabolite in Biotaprobe, bestehend aus PBCD, TBCD sowie den entsprechenden mono- und dihydroxylierten Verbindungen [227]. Einige dieser Verbindungen konnten auch in Wildtieren (Eier von Seeschwalben <*Sterna sp.*>, Fettgewebe von Seehunden) nachgewiesen werden.

In subakuten Studien wurden verschiedenen Gruppen von Wistar-Ratten unterschiedlich hohe HBCD-Konzentrationsniveaus über 28 Tage oral verabreicht [228]. Die fremdstoffmetabolisierenden Enzyme

CYP1A, 2B und 3A der Leber und deren Induzierung waren hierbei das Ziel der Untersuchungen. Induktionseffekte in diesen Enzymfamilien wurden zusätzlich in Ratten-Hepatozyten ermittelt. Bei diesen *in vitro*-Versuchen wurden die Cytochrome CYP1A, 2B und 3A konzentrationsabhängig induziert, *in vivo* war dies allerdings nur bei CYP2B und 3A ab höheren HBCD-Gehalten ($>3 \text{ mg (kg Tag)}^{-1}$) zu beobachten. HBCD besitzt somit das Potential der Induktion der am Phase I- und II-Metabolismus beteiligten Enzyme [229,230] wie die Cytochrome CYP1A, 2B, 3A und 2H [228,231-233] sowie auch die UDP-Glycosyltransferase UGT [231,232,234].

Grundsätzlich konnten in verschiedenen Studien hydroxylierte und debromierte Verbindungen des HBCDs in Spuren identifiziert werden [63,80,162,164,235], wobei gerade in abiotischen Probenmaterialien vorrangig die debromierten Verbindungen, PBCD oder TBCD nachweisbar waren [63,162,164]. Eine weiterführende Studie von Lo *et al.* befasste sich mit der Reaktion von HBCD mit reduzierenden Schwefelspezies wie Polysulfide und Bisulfide, welche auch in anoxischen Kompartimenten der Umwelt (Küstengewässer und Sediment) zu finden sind [236]. Hierbei konnte die Bildung zweier Abbauprodukte des HBCDs beobachtet werden, das TBCD sowie das Dibromcyclododecadien.

Untersuchungen zur Toxikokinetik an aus Bodenproben isolierten Bakterienstämmen (*Pseudomonas sp.*) zeigten, dass diese in der Lage sind, γ -HBCD abzubauen [237]. Weiterhin konnten Davis *et al.* Halbwertszeiten für die Biodegradation des technischen HBCDs in Boden (6,9-63 Tage) sowie Sediment (1,1-32 Tage) bestimmen [238]. Die biologische Transformation von α -, β - und γ -HBCD wurde auch unter Einsatz $^{14}\text{C}_{12}$ -markierter HBCD-Standards in Abwasser, Schlamm, Süßwasser sowie Sediment untersucht. Im Ergebnis konnten die durch Debromierung entstandenen drei Metabolite, TBCD, Dibromcyclododecadien sowie CDT identifiziert werden [239]. Heeb *et al.* untersuchten die Biotransformationsprozesse von HBCD unter Einfluss von LinB, einem Enzym des Bakterienstammes *Sphingobium indicum* B90A, welcher aus Bodenproben isoliert werden konnte [240]. Bei diesem Enzym handelt es sich um eine Haloalkan-Dehalogenase, welche bereits im Zusammenhang mit der Biotransformation von HCH untersucht wurde und entsprechend hydroxylierte Metabolite bildet. Aufgrund der Analogie von HCH in Bezug auf die Stereochemie wurde daher in der Untersuchung von Heeb *et al.* HBCD mit LinB inkubiert, resultierend in der Bildung von Pentabromcyclododecanol sowie Tetrabromcyclododecandiol. Keine der beiden Verbindungen konnte jedoch bislang in Abiota nachgewiesen werden.

Durch Inkubation von Klärschlamm wurde der Abbau von HBCD unter aeroben und anaeroben Bedingungen untersucht. Die Halbwertszeiten von technischem HBCD lagen zwischen 0,59 und 0,66 Stunden, wobei α -HBCD eine annähernd doppelt so hohe Halbwertszeit im Vergleich zu β - und γ -HBCD aufwies [241]. Im Rahmen der Diskussion bezüglich der Persistenz der einzelnen Diastereomere sind diese Untersuchungsergebnisse von besonderem Interesse und könnten die Dominanz des α -HBCD in Biota begründen.

2.9.3 Neurotoxikologische und endokrine Wirkung

Im Rahmen einer Neurotoxizitäts-Studie wurde neonatalen Mäusen noch vor der Entwicklungsphase des Gehirns HBCD oral verabreicht [242,243]. Dosisabhängige Effekte wie ein verändertes spontanes Verhalten, Änderungen in der Fortbewegung sowie der allgemeinen Aktivität konnten beobachtet werden und ergaben ein LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) von $0,9 \text{ mg (kg Tag)}^{-1}$. Weiterhin kann HBCD die Aufnahme der Neurotransmitter Dopamin, Glutamat und γ -Aminobuttersäure inhibieren und somit das zentrale Nervensystem beeinträchtigen [244-246]. 24-stündige Expositionsstudien an Zellen des Kleinhirns von Ratten zeigten, dass HBCD im Vergleich zu ausgewählten PBDEs und TBBPA mit einem LC_{50} (*Median Lethal Concentration*) von $3 \mu\text{M}$ das toxischste PBFSM darstellt und bereits in geringen Konzentrationen den Zelltod herbeiführen kann [247,248]. Ähnliche Studien bestätigten diesen Befund, wobei γ -HBCD als das Diastereomer mit dem größten toxischen Potential identifiziert wurde [249,250].

Trotz der fehlenden gemeinsamen phenolischen Grundstruktur mit den Schilddrüsenhormonen Triiodthyronin (T3) und Thyroxin (T4), übt HBCD einen agonistischen Effekt auf die entsprechenden Rezeptoren aus und steht daher im Verdacht, endokrin wirksam zu sein [231,232,234,251-254]. So wurde

beispielsweise anhand von *ex vivo*-Untersuchungen an Kaulquappenschwanzspitzen festgestellt, dass ihre durch T3 gesteuerte Rückbildung nach Verabreichung von HBCD potenziert wird [255]. Östrogenwirksame Aktivitäten wurden mit Hilfe von Untersuchungen an menschlichen Brustzelllinien nachgewiesen [256].

Durch wiederholte orale Gabe von HBCD wurde in *in vivo*-Tiermodellen (Ratte, Human) sowie in *in vitro*-Versuchsreihen der Effekt der Vergrößerung der Schilddrüse durch Zellneubildung (Schilddrüsenhyperplasie) beobachtet [229,233,257]. Das in diesen Untersuchungen ermittelte Potential von HBCD zur Störung der Schilddrüsenfunktion konnte ebenfalls durch Versuche an Fischen und Vögeln bestätigt werden [234,258,259]. Eine Interpretation bzw. Übertragung dieser Ergebnisse hinsichtlich der Wirksamkeit gegenüber dem menschlichen Organismus ist jedoch aufgrund möglicher unterschiedlicher Wechselwirkungs- und Metabolisierungsmechanismen als kritisch bzw. kaum möglich zu betrachten.

2.9.4 Mutagenität und Kanzerogenität

Anhand von Untersuchungen an Human-Leber-Karzinom-Zellen konnte gezeigt werden, dass HBCD die Genexpression beeinflusst [260]. In Leber und Gonaden des Stichlings konnte kein Effekt des HBCDs auf die DNA-Methylierung und einer damit einhergehenden mutagenen Wirkung beobachtet werden [261]. Im Gegensatz zu diesem Befund zeigte eine *in vivo*-Studie an *Gobiocypris rarus* (zur Familie der Karpfenfische gehörend), dass HBCD DNA-Schäden hervorrufen kann [230].

Bei wiederholter Vergabe von HBCD im Rahmen einer „Ein-Generationen-Studie“ wurden Wistar-Ratten mit HBCD dotiertem Futter verschiedener Konzentrationsniveaus von der Geschlechtsreife bis über die Laktation hinaus gefüttert [262]. Hierbei konnten konzentrationsabhängige Effekte auf die an der Regulation der Transkription einer Vielzahl von Zielgenen beteiligten apolaren Retinoide sowie auf die Aromatase, einem Enzym, welches an der Biosynthese der Östrogene mitwirkt, nachgewiesen werden [263]. Um die Effekte von HBCD auf die somatische Rekombination zu untersuchen, wurden *in vitro*-Assays auf Basis zweier chinesischer Hamster-Zelllinien untersucht. Einige geringe, dennoch statistisch signifikante dosisabhängige Erhöhungen der somatischen Rekombination konnten beobachtet werden [264]. In Analogie zu DDT und den PCBs könnte dieser Effekt zu einer erhöhten Karzinom-Bildungsrate führen. In einer 18-monatigen Studie an Mäusen hinsichtlich der Kanzerogenität von HBCD wurden eine Vielzahl von Organen sowie Gewebekompartimenten auf mögliche Tumore und neoplastische Veränderungen hin untersucht, wobei sich nur in der Leber Veränderungen zeigten [37].

2.9.5 Weitere toxikologische Untersuchungen

Bei Studien unter wiederholter Zugabe von HBCD konnte die Leber als Zielorgan (u. a. Human, Ratte) für die Anreicherung sowie stoffbezogene toxikologische Veränderung in Form von Gewichtszunahme (Hyperplasie) identifiziert werden [213,265]. Im Ergebnis dieser Studien wurde ein LOAEL von 100 mg (kg Körpergewicht und Tag)⁻¹ bestimmt. Eine berufsbedingte Exposition wurde an Angestellten eines norwegischen, XPS-produzierenden Unternehmens durch Analyse des Blutplasmas im Rahmen einer Monitoring-Studie untersucht [153]. Hierbei waren die γ -HBCD-Gehalte in allen Untersuchungen, im Vergleich zu den üblichen biologischen Proben, relativ hoch, was auf die direkte Exposition der Probanden mit dem technischen Gemisch des HBCDs zurückführbar war (Tabelle A1).

Hinsichtlich der Zytotoxizität des HBCDs konnte innerhalb der Diastereomere eine Toxizitäts-Reihenfolge festgelegt werden: γ -HBCD > β -HBCD > α -HBCD [266]. Die Untersuchungen erfolgten hierbei an Hep G2 Zelllinien, deren Lebensdauer nach Exposition mit HBCD stark verkürzt war.

Um die Wirkung von HBCD auf die Reproduktion und die Fertilität zu untersuchen, wurden Turmfalken (*Falco tinnunculus*) mit verschiedenen hohen HBCD-Dosen exponiert [267]. Dabei ergab sich eine umgekehrt-proportionale Korrelation zwischen den verabreichten HBCD-Gehalten und der Größe der gelegten Eier sowie der Stärke ihrer Schalen. Weiterhin zeigten sich eine reduzierte Fruchtbarkeit sowie geringere Reproduktions-Erfolge bei den Turmfalken.

Toxikologische Untersuchungen an Plattmuscheln (*Macoma baltica*) zeigten eine Veränderung der Zellkerne aufgrund einer Fehlfunktion der ribosomalen Gene [268]. Darüber hinaus reduziert HBCD die Funktion der Lymphozyten, welche in der Lage sind, abnormale Zellen (bspw. Tumorzellen und virusinfizierte Zellen) zu erkennen und abzutöten [269]. Lymphozyten, die mit HBCD in Kontakt kamen, büßten ihre zellbindende Funktion ein und die Zell-Oberflächen-Marker-Expression wurde verringert [270]. Somit kann die Reduktion der auflösenden Wirkung der Killerzellen durch Exposition mit HBCD erklärt werden und verdeutlicht, dass Krebserkrankungen und virale Effekte durch den Einfluss von HBCD verstärkt auftreten können.

In diesem Kontext wurden fünf Wochen alte Mäuse, die zuvor mit HBCD dotiertes Futter erhielten, mit einem *Respiratory-Syncytial-Virus* (Symptome: Schnupfen, Husten, akute Bronchitis, Mittelohrentzündung) infiziert [271]. Bei diesem Versuch konnte keine Immunantwort festgestellt werden, was die Befunde zur hemmenden Wirkung der Lymphozyten durch HBCD bestätigt.

Die schwedische Chemikalienbehörde KemI erarbeitete im Auftrag der EU eine europäische Risikoabschätzung für HBCD, welche im Jahr 2008 in ihrer genehmigten Version veröffentlicht wurde [37]. Unter Berücksichtigung der, bis zu diesem Zeitpunkt verfügbaren, stark begrenzten Datenlage, kann geschlussfolgert werden, dass weitere Untersuchungen auf dem Gebiet der Humantoxikologie, nicht zuletzt aufgrund der potentiellen endokrinen Wirksamkeit des HBCDs unternommen werden müssen [37]. Der Großteil der bisher beobachteten Wirkungsweisen von HBCD beruht zudem auf Untersuchungen unter Einsatz des technischen Gemisches. Informationen hinsichtlich der Toxizität der einzelnen Diastereomere oder gar der Enantiomere sind rar bzw. nicht vorhanden. Daher ist es von größter Wichtigkeit, enantiomerenspezifische Untersuchungen durchzuführen, um mögliche Unterschiede in der Toxizität der einzelnen Isomere aufzudecken.

3 Experimenteller Teil

3.1 Lösungsmittel und Chemikalien

Für die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit wurden die in Tabelle 5 aufgeführten Lösungsmittel, Chemikalien, Standards und Mikrosomen/Cytochrome verwendet.

Tabelle 5: Liste der verwendeten Substanzen mit Reinheitsangabe des Herstellers bzw. Vertreibers.

Lösungsmittel bzw. Chemikalie	Reinheitsangabe	Hersteller/Vertreiber
Aceton	Picograde®	LGC Promochem
Acetonitril	Ultra Gradient Grade	J.T. Baker
Acetonitril	HPLC Gradient Grade	LGC Promochem
Alamethicin	>90,0 %, HPLC	Fluka
Ammoniumacetat	Baker HPLC Analyzed	J.T. Baker
Argon	5.0	Air Liquide
Brom	puriss.	Fluka
Casein	für biochemische Zwecke	Merck
Chloroform	Picograde®	LGC Promochem
Coomassie® Plus (Bradford) Assay Kit (bestehend aus dem Farbreagenz und Rinder-Serum-Albumin)	keine Angaben	Thermo Fisher Scientific
Cumarin	zur Synthese ($\geq 99,0$ %)	Merck
<i>cis,trans,trans</i> -1,5,9-Cyclododecatrien	$\geq 96,0$ %	Fluka
Cyclohexan	Picograde®	LGC Promochem
Dichlormethan	zur Analyse	Merck
Dikaliumhydrogenphosphat	$\geq 98,0$ %	Carl Roth
Dimethylsulfoxid (DMSO)	zur Synthese ($\geq 99,0$ %)	Merck
1,4-Dithiothreitol	$\geq 99,0$ %	Fluka
Ethanol	absolut, 99,8 %, zur Analyse	Chemsolute®
7-Ethoxycoumarin	97,0 %	ABCR
7-Ethoxyresorufin	$\sim 90,0$ %	Biomol
Ethylacetat	Picograde®	LGC Promochem
Ethylendiamintetraessigsäure Di- Natriumsalz-Dihydrat (EDTA- Na ₂ · 2H ₂ O)	$\geq 99,0$ %	Merck
Florisil® (60-100 mesh)	für die Rückstandsanalytik	Sigma
Hexabromcyclododecan	pract.	Fluka
n-Hexan	Baker analyzed	J.T. Baker
Hydromatrix™	hochrein	Varian
2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)- ethansulfonsäure (HEPES)	$\geq 99,0$ %	Merck
Kaliumdihydrogenphosphat	zur Analyse ($>99,0$ %)	Bernd Kraft
Kieselgel 60 (0,063-0,2 mm)	für die Chromatographie	Fluka
Kohlenstoffmonoxid	4.7	Air Liquide
Magnesiumchlorid Hexahydrat	Baker analyzed	J.T. Baker
Methanol	HPLC Gradient Grade	J.T. Baker
Natriumchlorid	$\geq 99,5$ %	Riedel-de Haën
Natriumhydroxid	Baker analyzed	J.T. Baker

Chemikalie	Reinheitsangabe	Hersteller/Vertreiber
Natriumsulfat	Baker analyzed	J.T. Baker
Natriumthiosulfat-5-Hydrat	Baker reinst	J.T. Baker
Nicotinamadenindinukleotidphosphat-Tetranatriumsalz (NADPH)	97,0 %, für die Biochemie	Carl Roth
D-Saccharinsäure-1,4-Lacton Monohydrat	≥ 98,0 %	Sigma Aldrich
Salzsäure	33-35 % zur Analyse	Chemsolute®
Sauerstoff	4.8	Air Liquide
Seesand	washed and ignited	J.T. Baker
Stickstoff	5.0	Air Liquide
Tetrahydrofuran	Optigrade®	LGC Promochem
Toluol	Picograde®	LGC Promochem
Uridin-5'-diphosphoglucuronsäure Trinatriumsalz (UDPGA)	≥ 98,0 %	Sigma Aldrich
Standards	Reinheitsangabe	Hersteller/Vertreiber
α-HBCD (50 µg mL ⁻¹ in Toluol)	>98 %	Wellington Laboratories
β-HBCD (50 µg mL ⁻¹ in Toluol)	>98 %	Wellington Laboratories
γ-HBCD (50 µg mL ⁻¹ in Toluol)	>98 %	Wellington Laboratories
α- ¹³ C ₁₂ -HBCD (50 µg mL ⁻¹ in Toluol)	>98 %	Wellington Laboratories
β- ¹³ C ₁₂ -HBCD (50 µg mL ⁻¹ in Toluol)	>98 %	Wellington Laboratories
γ- ¹³ C ₁₂ -HBCD (50 µg mL ⁻¹ in Toluol)	>98 %	Wellington Laboratories
Mikrosomen/Cytochrome (CYPs)	Konzentration	Hersteller/Vertreiber
Wistar-Rattenleber, männlich	20 mg mL ⁻¹	In Vitro Technologies
Sprague-Dawley (SD)-Rattenleber, männlich	20 mg mL ⁻¹	In Vitro Technologies
SD-Rattenleber, männlich, induziert	Kapitel 4.6.1	Center for Cardiovascular Research, Charité
Lewis-Rattenleber, männlich	Kapitel 4.6.1	Center for Cardiovascular Research, Charité
Human-Leber, mixed gender	20 mg mL ⁻¹	In Vitro Technologies
Human recombinant (hr) CYP1A1	20 mg mL ⁻¹	In Vitro Technologies
hr CYP1A2	20 mg mL ⁻¹	In Vitro Technologies
hr CYP3A4	20 mg mL ⁻¹	In Vitro Technologies
hr CYP2D6	20 mg mL ⁻¹	In Vitro Technologies
hr CYP2E1	20 mg mL ⁻¹	In Vitro Technologies

3.2 Vorbereitende Arbeiten für die HBCD-Analytik

Mit der Entwicklung der instrumentellen Analytik und der damit einhergehenden gesteigerten Sensitivität vieler Analysensysteme rückt die Thematik der Reagenzienblindwerte immer stärker in den Fokus des wissenschaftlichen Interesses. Gerade bei ubiquitär vorkommenden Verbindungen wie den polybromierten Flammenschutzmitteln ist es von größter Bedeutung, evtl. auftretende Blindwerteinträge zu identifizieren und nach Möglichkeit zu minimieren bzw. vollständig zu vermeiden, um eine zuverlässige Analytik dieser Verbindungen auch im Ultraspurenbereich (pg g⁻¹-Bereich) zu gewährleisten. Eine mögliche, oft unterschätzte Ursache für Blindwerteinträge stellt die u. U. kontaminierte Laborluft dar. Durch adsorptive Effekte an Glasoberflächen können somit nicht reproduzierbare Kontaminationen/Verschleppungen das Analysenergebnis verfälschen [272].

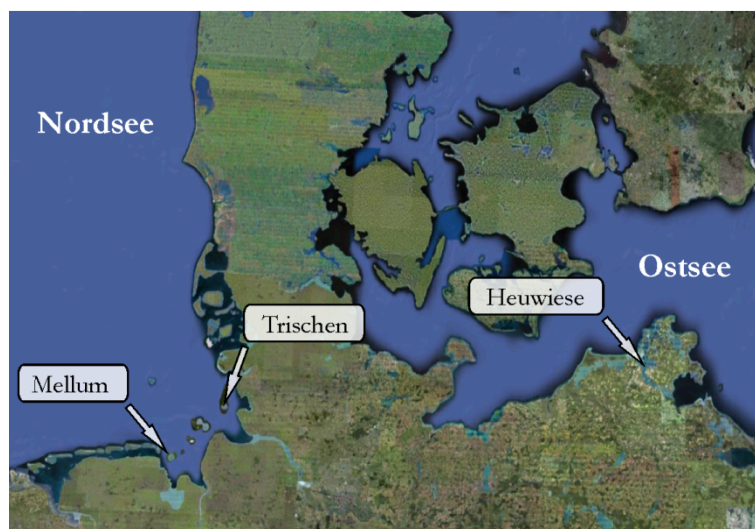
Um den Blindwerteintrag bei den Analysen so gering wie möglich zu halten, wurden die in dieser Arbeit verwendeten Lösungsmittel vor ihrem Einsatz auf den jeweiligen Blindwertbeitrag hin analysiert. Bei deutlichen Blindwertbeiträgen erfolgte entweder eine Aufreinigung des Lösungsmittels durch Destillation (bspw. *Subboiling*) oder die entsprechende Lösungsmittelcharge wurde gewechselt. Alle verwendeten Glasgeräte wurden, nachdem sie für mindestens 48 Stunden im Basen- und 24 Stunden im Säurebad lagen, mehrfach mit *Subboiling*-Methanol gespült, getrocknet, bei 460 °C für mindestens 20 Stunden im Muffelofen ausgeheizt und anschließend unter Stickstoff im Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt. Verbrauchsmaterialien, die dieser Prozedur nicht unterzogen werden konnten (z. B. ASE®-Zellen), wurden durch mehrmaliges Vorspülen mit einem geeigneten Lösungsmittel (z. B. Ethylacetat) gereinigt. Eppendorf-Spitzen wurden nur eingeschränkt verwendet und nach Möglichkeit durch Pasteur-Pipetten ersetzt.

Alle Kalibrierstandards, Stamm- und Standardlösungen wurden im Kühlschrank bei 4 °C in CERTAN®-Flaschen gelagert, um eine Verdunstung und damit einhergehende Aufkonzentrierung oder Zersetzung der jeweiligen Verbindungen zu reduzieren. Als weitere qualitätssichernde Maßnahme erfolgten Lagerung und Entnahme dieser Lösungen unter gravimetrischer Kontrolle. Darüber hinaus bestehen besondere Anforderungen an die Lagerung der für die Metabolisierungs-Untersuchungen verwendeten Mikrosomen- und Cytochrom-Emulsionen sowie der Enzyme und Co-Substrate. Die Lagerung erfolgte mit Ausnahme der Co-Substrate (-18 °C) bei -80 °C.

3.3 Probenmaterialien

3.3.1 Silbermöweneier von der deutschen Küste

Im Rahmen einer Zusammenarbeit mit dem Umweltbundesamt (UBA) wurden zwischen den Jahren 1988 bis 2008 gesammelte Eier der Silbermöwe (*Larus argentatus*) mehrerer Standorte in der Nord- und Ostsee aus der Umweltprobenbank des Bundes bezüglich ihres HBCD-Gehaltes untersucht, um anhand der Ergebnisse die Entwicklung der HBCD-Kontaminationen innerhalb dieses Zeitraumes nachvollziehen zu können (Abbildung 17).



Geographische Koordinaten

Mellum:

B_g: 53°43'8,2"N - 53°43'28,7"N;

L_g: 8°9'3,1"O - 8°9'4,4"O

Trischen:

B_g: 54°2'53,5"N - 54°3'17,4"N;

L_g: 8°41'21,1"O - 8°41'39,1"O

Heuwiese:

B_g: 54°25'38,1"N - 54°25'45,0"N;

L_g: 13°7'0,0"O - 13°7'12,2"O

Abbildung 17: Probenahmegebiete der Silbermöweneier.

Die Silbermöweneier (Tabelle 6) wurden im Rahmen der Konzeption der Umweltprobenbank des Bundes [273] auf den Inseln Trischen und Mellum (deutsches Wattenmeer) sowie Heuwiese (Ostsee) gesammelt. Die Probenahme erfolgte jährlich (Stichprobengröße von mind. 35 Eier je Insel) während der Hauptbrutzeit (April/Mai). Unmittelbar nach der Entnahme wurden die Eier bei 5 ± 3 °C Kühlung zunächst zwischengelagert und anschließend der gesamte Inhalt aller Eier eines Jahres von je einer Insel vereint. Nach dem Schockgefrieren des Eiinhaltes (durchschnittliche Eiinhaltsmasse: 70 g) in flüssigem Stickstoff

wurden die Proben gemahlen, homogenisiert, in Teilproben á 10 g abgefüllt und bei -18 °C eingelagert [274]. Zur Analyse der HBCD-Gehalte wurden die Volleipproben der Jahre 1988, 1991, 1994, 1996, 1998, 2000, 2002, 2004, 2006, 2008 der Nordsee-Inseln und 1998, 2000, 2002, 2004, 2006, 2008 der Insel Heuwiese nach vorangegangener Gefriertrocknung verwendet.

Tabelle 6: Probenahmejahr und Umfang der Silbermöwenei-Stichproben.

Probenahmejahr	Umfang der Stichprobe		
	Mellum	Trischen	Heuwiese
1988	120	120	-
1991	128	140	-
1994	120	120	-
1996	120	120	-
1998	120	125	124
2000	120	120	75
2002	97	110	50
2004	100	100	132
2006	90	90	50
2008	50	40	40

3.3.2 Marine Spezies des norwegischen Eikelandsfjordes

Die analysierten Salzwasserspezies entstammten dem norwegischen Eikelandsfjord (B_g: 60°14'18,7"N - 60°14'30,0"N; L_g: 5°41'23,2"O - 5°41'25,0"O), einem Nebenarm des Hardangerfjordes (50 km südlich von Bergen) und wurden im Zeitraum zwischen dem 24. August und 4. September 2009 gefangen (Abbildung 18).

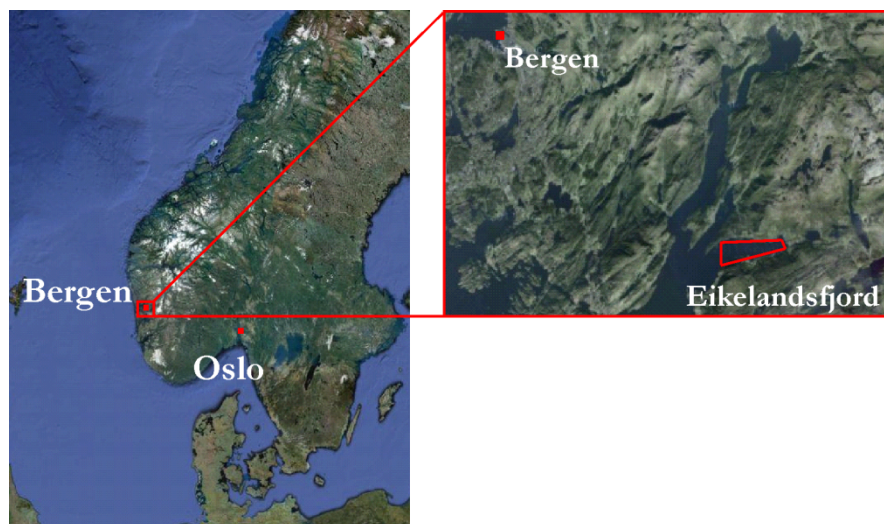


Abbildung 18: Fanggebiet im norwegischen Eikelandsfjord.

Die mit Angel, Vorfach und Pilker gefangenen Fischarten (u. a. Seelachs, Wittling und Knurrhahn; Tabelle 7) wurden direkt nach der fachgerechten Kehlung gemeinsam mit der Leber bei -18 °C eingelagert und ohne Unterbrechung der Kühlkette transportiert. Nach abschließender Aufnahme der metrischen Daten und Filetierung erfolgten die Gefriertrocknung, Mahlung und analytische Aufarbeitung der Fische (Kapitel 3.4 und 3.6), wobei die einzelnen Stichproben jeder Spezies (getrennt in Leber- und Muskelfleisch) zu einer Probe zusammengefasst wurden. Die Probenahme der Miesmuscheln sowie der großen Strandschnecken (Tabelle 7) erfolgte direkt am Ufer des Fjordes. Erst nach Gefriertrocknung des gesamten Probenmaterials wurde in beiden Fällen das Fleisch aus der Schale herausgelöst und im Ganzen zur Analyse herangezogen.

Tabelle 7: Zusammenstellung der in Norwegen gefangenen Salzwasserspezies inkl. metrischer Daten.

Spezies	lat. Name	Taxonomie	Anzahl (Stk.)	Größe (cm)
Gefleckter Lippfisch (grün)	<i>Labrus bergylta</i>	Barschartige (<i>Perciformes</i>)	2	33,0; 38,0
Gefleckter Lippfisch (rot)	<i>Labrus bergylta</i>	Barschartige (<i>Perciformes</i>)	1	36,0
Grauer Knurrhahn	<i>Eutrigla gurnardus</i>	Drachenkopftartige (<i>Scorpaeniformes</i>)	6	31,0-35,0
Große Strandschnecke	<i>Littorina littorea</i>	Schnecken (<i>Sorbeoconcha</i>)	150	2,0-4,0
Makrele	<i>Scomber scombrus</i>	Barschartige (<i>Perciformes</i>)	3	30,0-40,0
Miesmuscheln	<i>Mytilus edulis</i>	Muscheln (<i>Mytiloida</i>)	100	4,0-8,0
Nagelrochen	<i>Raja clavata</i>	Rochen (<i>Rajiformes</i>)	1	60,0
Seelachs	<i>Pollachius virens</i>	Dorschartige (<i>Gadiformes</i>)	2	35,0; 80,0
Wittling	<i>Merlangius merlangus</i>	Dorschartige (<i>Gadiformes</i>)	4	28,0-31,0
Zirrenkrake	<i>Eledone cirrhosa</i>	Kraken (<i>Octopoda</i>)	1	60,0

3.3.3 Fütterungsstudie

In Zusammenarbeit mit dem Institut für Binnenfischerei e. V. Potsdam-Sacrow wurden im Rahmen eines Tierversuchsvorhabens im Jahr 2008 insgesamt 170 Spiegelkarpfen (*Cyprinus carpio*) im Gewichtsbereich von etwa 80 g (gemischten Geschlechts) von der Teichwirtschaft EULO in Forst bei Cottbus bezogen. Ziel war es, nach Gabe von mit (+)- bzw. (-)- γ -HBCD dotiertem Futter, eine enantiomerenspezifische Akkumulation der jeweiligen Isomere sowie eine(n) mögliche(n) Biointerkonvertierung/Abbau zu beobachten. Das hierfür verwendete Fischfutter (DAN-EX 1750 Alleinfuttermittel, DANA FEED A/S, Horsens, Dänemark; Tabelle 8) wies eine Pelletgröße von 3,0 mm auf.

Tabelle 8: Zutaten und Nährwerte des Alleinfuttermittels DAN-EX 1750 gemäß den Herstellerangaben.

Zutaten (Angaben in Gew.-%)			
Fischmehl	46,30	Soja, dampferhitzt	3,00
Sojaproteinkonzentrat	15,00	Erbsen	3,00
Fischöl	11,62	Vitaminvormischung	0,45
Rapssamen	3,00		
Zusatzstoffe			
Kupfer	5 mg kg ⁻¹	Vitamin E	198 mg kg ⁻¹
Vitamin A	0,72 i. U. g ^{-1a}	Butylhydroxytoluol	79 mg kg ⁻¹
Vitamin D3	0,11 i. U. g ^{-1 a}		
Nährwerte (Angaben in Gew.-%)			
Roheiweiß	50,00	Rohfaser	2,60
Rohfett	17,00	Phosphor	1,03
Rohasche	8,92		

^a i. U. (International Units): im Falle von Vitamin A entspricht 1 i. U. dem biologischen Äquivalent von 0,3 µg Retinol bzw. 0,6 µg β -Caroten. 1 i. U. Vitamin D3 entspricht dem biologischen Äquivalent von 0,025 µg Cholecalciferol.

3.3.4 Fischlebermikrosomen

Mit dem Ziel, die Metabolisierung von HBCD *in vivo* in Süßwasserfischen genauer zu untersuchen, erfolgte die Isolierung von Mikrosomen aus dem Lebergewebe von Spiegelkarpfen und Regenbogenforellen. Die Lebern der jeweiligen Spezies wurden am 8. und 17. Februar 2010 von Fischereien aus der südöstlichen Umgebung Berlins bezogen (Tabelle 9). Das Lebergewebe wurde den Fischen direkt nach fachgerechter Kehlung vor Ort entnommen, unter ständiger Kühlung auf Trockeneis zur Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) transportiert und bei -80 °C bis zur Aufarbeitung eingelagert.

Tabelle 9: Kenndaten der für die Isolierung der Lebermikrosomen verwendeten Fischarten.

Fischart	lat. Name	Bezugsquelle	Anzahl (Stk.)	Alter (Jahre)	Größe der Fische (cm)
Spiegelkarpfen	<i>Cyprinus carpio</i>	Fischerei Löcknitz 15537 Neu Zittau	13	3	>35,0
Regenbogenforelle	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Fischerei Beeskow 15848 Beeskow	10	2	>40,0

3.3.5 Hausinternes Referenzmaterial

Da für ein analytisches Verfahren eine für den jeweiligen Anwendungszweck ausreichende Genauigkeit (Richtigkeit, Präzision) unabdingbar ist, sollten im Routinebetrieb zertifizierte Referenzmaterialien in jeder Analysenserie analysiert werden. Im Falle der HBCD-Analytik sind bis zum jetzigen Zeitpunkt weltweit keine zertifizierten Referenzmaterialien verfügbar. Aus diesem Grund wurde zur Überprüfung und Sicherung der Qualität der Analysenergebnisse ein hausinternes Material hergestellt. Hierzu wurden 20 Hühnereier (Gesamtgewicht ohne Schale: 1.134 g) aus dem Einzelhandel der Gewichtsklasse L (Moos-Butzen GmbH, Viersen, Deutschland) bezogen und gemäß den in Kapitel 3.7 angegebenen Verfahrensschritten behandelt.

3.4 Probenvorbereitung für die enantiomerenspezifische HBCD-Analytik in ausgewählten biotischen Matrices

Die im Folgenden vorgestellte Vorgehensweise der Probenvorbereitung im Rahmen der enantiomerenspezifischen Analyse der HBCD-Gehalte in Biotaprobe basiert auf der Strategie von Köppen *et al.* [14,145]. Das Anwendungsspektrum dieses Analysenverfahrens wurde dahingehend erweitert, dass es neben fettreichen und -armen Fischen auch für weitere marine Lebewesen (Krake, Muschel und Schnecke) sowie für Ei (Hühner- und Möwenei) eingesetzt werden kann. Zudem erfolgte eine Optimierung der vorbereitenden Arbeiten (Kapitel 3.2) hinsichtlich des Einsatzes und der Reinigung diverser Verbrauchsmaterialien und Glasgeräte mit dem Ziel, den Blindwerteintrag zu reduzieren.

3.4.1 Gefriertrocknung

Die Gefriertrocknung oder Lyophilisation bietet durch das Prinzip der Sublimation eine schonende Methode, um das für die weiteren Analysenschritte störende Wasser aus dem Proben zu entfernen, wodurch infolge der Aufkonzentrierung, absolut betrachtet, mehr Probenmaterial pro Einwaagen eingesetzt werden kann. Die im Rahmen der HBCD-Analytik untersuchten Biotaprobe wurden mit Hilfe der Gefriertrocknungsanlage LYOVAC GT2 der Firma FINN-AQUA SANTASALO - SOHLBERG GmbH (Hürth, Deutschland) lyophilisiert. Nach einer erforderlichen 30-minütigen Warmlaufphase der Vakuumpumpe wurden die Probenmaterialien im gefrorenen Zustand (-18 °C) in Metallschalen oder Glasbehälter überführt, in den Trocknungsraum der Anlage gestellt und der Gefriertrocknungsvorgang gestartet. Als Enddruck für die Gefriertrocknung wurde ein Unterdruck von $9,0 \cdot 10^{-2}$ mbar eingestellt. Zur effektiveren Trocknung der Probenmaterialien innerhalb eines Zeitraumes von 24-72 Stunden wurden diese in einer Schichtstärke von etwa 1-2 cm in den entsprechenden Trocknungsgefäßen ausgebracht. Nach Erreichen des eingestellten Druck-Wertes wurde die Vollständigkeit der Gefriertrocknung durch ein

einminütiges Schließen eines Absperrventiles zwischen Trocknungs- und Kondensationsraum überprüft. Konnte innerhalb dieser Absperrzeit kein Druckanstieg innerhalb des Trocknungsraums festgestellt werden, wurde die Gefriertrocknung beendet.

3.4.2 Mahlung

Im Anschluss an die Gefriertrocknung des Probenmaterials wurde dieses mit einer Zentrifugalmühle (Typ: ZM 1000) der Firma Retsch (Retsch GmbH, Haan, Deutschland) gemahlen. Vorbereitend wurden die Probenmaterialien mit Hilfe eines Messers grob vorzerkleinert ($\leq 1 \text{ cm}^3$) und mit flüssigem Stickstoff in einer Metallschale versprödet. Um eine übermäßige Erhitzung des Probenmaterials und damit dessen Denaturierung während des Mahlprozesses zu vermeiden, erfolgte die Mahlung unter ständiger Kühlung mit flüssigem Stickstoff. Die Wahl der Ringsiebeinsätze war vom Fettgehalt des jeweiligen Materials abhängig. Um ein Verkleben/Verstopfen des Einsatzes während des Mahlens von fettreichen Proben (bspw. Makrelenfilet) zu vermeiden, wurden Ringsiebeinsätze mit größeren Lochweiten eingesetzt. Insgesamt betrugen diese 250 bis $1.000 \mu\text{m}$. Die Zentrifugalmühle wurde mit 15.000 Umdrehungen pro Minute (Upm) betrieben. Um das Probenmaterial von im Verlauf der Mahlung angefallener Kondensationsfeuchte zu befreien, wurde im Anschluss erneut eine Gefriertrocknung durchgeführt.

3.4.3 Homogenisierung

Um ein homogen verteiltes Probenmaterial zu erhalten, wurde es unter Verwendung eines Rhönradmischers (RRM 200, J. Engelsmann AG, Ludwigshafen a. Rh., Deutschland) bzw. eines Überkopfschüttlers (Heidolph REAX 20/8, Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland) über eine Dauer von 12 Stunden bei Zimmertemperatur intensiv durchmischt. Auf diese Weise konnten die einzelnen Probenmaterialien so weit homogenisiert werden, dass auch kleine Stichprobeneinwaagen (bspw. 0,2-2 g) möglich waren.

3.5 Herstellung der Kalibrierlösungen

Die abschließende Quantifizierung von HBCD beruht bei dem hier angewandten Analysenverfahren auf dem Prinzip der Isotopenverdünnung unter Verwendung eines HPLC-MS/MS-Systems. In Rahmen dieser Vorgehensweise wurden vor der Extraktion diastereomerenreine $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD-Standardlösungen (interner Standard) der Probe zugesetzt. Die Kalibrierung erfolgte mittels externer Standardlösungen. Zu ihrer Herstellung wurden zunächst aus den nativen und vollständig ^{13}C -markierten HBCD-Standards (Tabelle 5) methanolische Stammlösungen mit einem HBCD-Gehalt von 400 ng g^{-1} gravimetrisch kontrolliert hergestellt und bei 4°C unter Lichtausschluss im Kühlschrank gelagert. Die Kalibrierlösungen wurden aus den Stammlösungen gravimetrisch so hergestellt, dass der HBCD-Gehalt der Probe im mittleren Bereich der Kalibriergeraden lag. Jeder Kalibrierlösung wurden die $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD-Standards ebenfalls als interne Standards (20 ng g^{-1} je Kalibrierlösung) zugesetzt. Ein Aliquot der Kalibrierlösungen wurde in HPLC-Vials überführt und unter Verwendung der entsprechenden HPLC-Methode analysiert (Kapitel 3.10).

3.6 Probenaufarbeitung

Nach abgeschlossener Probenvorbereitung des Materials, bestehend aus Gefriertrocknung, Mahlung, erneuter Gefriertrocknung und Homogenisierung, wurden die Zielanalyten ((\pm)- α -, β - und γ -HBCD) aus der Biotaprobe herausgelöst, die erhaltenen Extrakte von einer Vielzahl von Matrixbestandteilen befreit und aufkonzentriert, um diese anschließend unter Verwendung der HPLC-MS/MS zu quantifizieren. Die Extraktion der Analyten erfolgte unter Verwendung der beschleunigten Lösungsmittelextraktion (*Accelerated Solvent Extraction*, ASE®). Zur Abtrennung der mitextrahierten Lipide sowie weiterer störender Matrixkomponenten wurde die Gelpermeationschromatographie (GPC) in Kombination mit einer nachgeschalteten säulenchromatographischen Aufreinigung durchgeführt.

3.6.1 Beschleunigte Lösungsmittlextraktion

Die ASE® beruht auf dem kombinierten Einsatz von hohem Druck und hoher Temperatur in Gegenwart geeigneter Lösungsmittel, um den/die jeweiligen Analyten aus der vorliegenden Probe herauszulösen. Die Vorteile dieses Verfahrens sind neben dem geringen Lösungsmittelverbrauch die kurzen Extraktionszeiten sowie ein hoher Automatisierungsgrad. Für die im Rahmen dieser Arbeiten durchgeführten ASE®-Extraktionen wurde ein ASE® 200 System der Firma Dionex (Dionex Corp., Sunnyvale, USA) verwendet. Die Extraktion der Proben erfolgte in 11 mL-Edelstahlhülsen (ASE®-Zellen).

Zur Befüllung der ASE®-Zellen wurden zunächst zwei Cellulose-Filter am Boden der Zelle platziert und mit etwa 0,5 g bei 220 °C (24 h) ausgeheiztem Seesand bedeckt, um eine Verstopfung der ASE®-Kapillaren durch Schwebstoffe und Partikel während der Extraktion zu verhindern. Die dünne Seesandschicht wurde mit 1,0 g bei 120 °C (24 h) ausgeheizter Hydromatrix™ (Diatomeenerde) als Wasser-Adsorbent überschichtet und mittels eines zylindrischen Stempels manuell komprimiert. Im Anschluss erfolgte die Probeneinwaage ($n = 2-5$), wobei je nach Kontaminationsniveau und Fettgehalt der Probenmaterialien zwischen 0,2 und 2 g eingewogen wurden. Nach einem weiteren Verdichtungsschritt wurde der verbleibende Raum der ASE®-Zelle mit Seesand aufgefüllt, gravimetrisch kontrolliert, mit den internen Standards dotiert, fest verschlossen und im ASE®-Gerät positioniert. In Tabelle 10 sind die Verfahrenskenndaten der verwendeten ASE®-Verfahrens aufgelistet. Es wurden grundsätzlich drei Extraktionszyklen (Lösungsmittel: Ethylacetat) pro Probe durchlaufen, um die Vollständigkeit der Extraktion sicherzustellen. Der Extrakt wurde im Anschluss unter Verwendung eines Heizbades (55 °C) und eines 6-Port Mini-Vap (Supelco, Bellefonte, USA) mit Hilfe eines leichten Stickstoffstromes bis zur Trockene eingengt.

Tabelle 10: ASE®-Verfahrenskenndaten der HBCD-Extraktion diverser Biotapuben.

Vorheizphase	0 min	Druck	140 bar
Heizphase	5 min	Temperatur	100 °C
Extraktionsmodus	statisch	Spülvolumen	60 %
Extraktionszeit	10 min	Trocken-Zeit	60 s

3.6.2 Gelpermeationschromatographie (GPC)

Die GPC, auch als Größenausschlusschromatographie bezeichnet, stellt ein säulenchromatographisches Verfahren dar, welches eine Trennung komplexer Stoffgemische entsprechend der jeweiligen Molekülgröße ermöglicht. In der HBCD-Analytik wird diese Technik verwendet, um die mitextrahierten Lipide und andere Störkomponenten zu entfernen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde hierfür das GPC-System VARIO der Firma LCTech (LCTech Gesellschaft für Chromatographie und Automatisierung mbH, Dorfen, Deutschland) eingesetzt. Als Säulenmaterial wurden 50 g des Polystyrol/Divinylbenzol-Copolymers Bio-Beads S-X3 (200-400 mesh) verwendet. Die Säulendimensionen betrugen 500 x 40 mm (L x OD; *Cut-off*: 2,0 kDa).

Die im Heizbad mit Stickstoff bis zur Trockene eingengten Probenextrakte (Kapitel 3.6.1) wurden hierfür unter Verwendung eines Ultraschallbades viermal mit je 1 mL Ethylacetat aufgenommen, gravimetrisch kontrolliert, auf 10 mL aufgefüllt, filtriert und abschließend über SPE-Kartuschen mit Spritzenvorsatzfilter unter Stickstoffdruck in GPC-Vials überführt. Pro Injektion wurden 6,4 mL des wieder aufgenommenen Probenextraktes über die Probenschleife auf die GPC-Säule aufgegeben. Als Eluent wurde ein Gemisch aus Ethylacetat und Cyclohexan (1 : 1, v : v) bei einem Fluss von 4,0 mL min⁻¹ verwendet. Der Elutionsbereich lag zwischen 80-120 mL (Laufzeitbereich: 20-30 min) bei einer Gesamtlaufzeit von 40 min. Der so erhaltene vorgereinigte Extrakt wurde für die weitere säulenchromatographische Aufreinigung (Kapitel 3.6.3) erneut vorsichtig im Heizbad mittels Stickstoffstrom bis zur Trockene eingengt.

3.6.3 Säulenchromatographische Aufreinigung der GPC-Eluate mittels Florisil®

In einem zweiten Aufreinigungsschritt sollten die mittels GPC vorgereinigten Probenextrakte von noch verbliebenen Begleitstoffen befreit werden, welche die Quantifizierung der HBCD-Gehalte bspw. durch Überlagerungseffekte stören könnten. Die Nachreinigung des GPC-Eluates erfolgte hierbei unter Anwendung der Säulenadsorptionschromatographie in SPE-Kartuschen. Als Trägermaterial diente Magnesiumsilikat, welches als Florisil® kommerziell vertrieben wird. Die SPE-Kartuschen wurden mit PTFE-Fritten versehen und mit 1 g bei 170 °C (24 h) ausgeheiztem Florisil® befüllt.

Das bis zur Trockene eingeeengte GPC-Eluat (Kapitel 3.6.2) wurde mit Hilfe eines Ultraschallbades in 1.000 µL n-Hexan aufgenommen und auf die Florisil®-Säule aufgegeben. Anschließend wurde die GPC-Flasche einmal mit 1.000 µL sowie zweimal mit jeweils 500 µL n-Hexan nachgespült. Die Elution des HBCDs erfolgte mit weiteren 2 mL n-Hexan, gefolgt von 13 mL eines 1 : 1 Gemisches aus n-Hexan und Dichlormethan (v : v). Die HBCD-Fraktion wurde in einem 50 mL Spitzkolben aufgefangen und vorsichtig mit Stickstoff bis zur Trockene eingeeengt. Die Rückstände wurden für die HPLC-MS/MS-Analyse gravimetrisch kontrolliert in 300 µL Methanol aufgenommen, die Messlösung in mit Mikrolitereinsätzen versehene HPLC-Vials überführt und bis zur Analyse bei 4 °C im Kühlschrank gelagert.

3.6.4 Bestimmung des Fettgehaltes

Das nach der GPC-Aufgabe im GPC-Vial verbliebene Extraktvolumen von ca. 2 mL (Kapitel 3.6.2) wurde zur gravimetrischen Bestimmung des Fettgehaltes eingesetzt. Hierzu wurden von der im GPC-Probenvial verbliebenen Lösung jeweils drei Aliquote (à 500 µL) entnommen und in zuvor ausgewogene HPLC-Vials (V = 1,5 mL) eingewogen. Die befüllten HPLC-Vials wurden für 4 h bei 120 °C im Trockenschrank belassen, vorsichtig im Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt und erneut ausgewogen. Unter Berücksichtigung der Aliquotierung sowie der Probeneinwaage pro Extrakt war es möglich, aus den drei Wiederholbestimmungen den Mittelwert des Fettgehaltes pro Extraktvolumen zu ermitteln und unter Berücksichtigung aller Parallelaufarbeitungen den Fettgehalt der jeweiligen Probe zu berechnen. Allerdings gilt es zu berücksichtigen, dass nur der freie Fettgehalt der Matrix ermittelt wird. Lipide, welche von Kohlenhydraten bzw. Proteinen eingeschlossen sind, werden bei dieser Vorgehensweise, ohne einen vorherigen Aufschluss, nicht miterfasst.

3.7 Herstellung eines hausinternen Referenzmaterials

Als hausinternes Referenzmaterial zur Qualitätssicherung durch Führung einer Kontrollkarte dienten mit HBCD dotierte Hühnereier (Kapitel 3.3.5). Zur Herstellung des Materials wurden handelsübliche Hühnereier (n = 20) in ein 2 L Becherglas aufgeschlagen, gewogen, mit HBCD dotiert und anschließend mit Hilfe eines Stabmixers homogenisiert. Im Anschluss daran wurde das Material gefriergetrocknet, fein gemahlen ($\leq 250 \mu\text{m}$) und abschließend das erhaltene Eipulver mit Hilfe eines Überkopfschüttlers homogenisiert (Kapitel 3.4.3). Die Lagerung des Referenzmaterials erfolgte bei -18 °C unter Lichtabschluss. Der resultierende Gesamt-HBCD-Gehalt betrug $(7,22 \pm 0,38) \text{ ng g}^{-1}$, wobei die Verteilung der einzelnen HBCD-Diastereomere ein ähnliches Muster wie in Biotaprobe aufwies (dominierendes α -HBCD). Die Stabilität des Materials wurde anhand einer Kurzzeitstabilitätsstudie (Dauer: acht Wochen) überprüft und konnte in deren Ergebnis als gegeben angesehen werden. In jeder Probenaufarbeitungsreihe erfolgten zwei unabhängige Analysen des hausinternen Referenzmaterials.

3.8 Untersuchung der Biointerkonvertierung anhand eines Fischfütterungsversuches

3.8.1 Herstellung des dotierten Futtermittels

3.8.1.1 Isolierung von (+)- und (-)- γ -HBCD mittels präparativer HPLC

Die enantiomerenspezifische Trennung und Isolierung von γ -HBCD erfolgte unter Einsatz eines präparativen HPLC-Systems von Varian (Varian Deutschland GmbH, Darmstadt, Deutschland), bestehend aus zwei PrepStar SD-1 Pumpen, einem ProStar 410 HPLC Autosampler, einem ProStar 335 HPLC Dioden Array Detektor (DAD) sowie einem ProStar 701 Fraktionssammler. Die Aufnahme und Bearbeitung der Daten erfolgte mit der Galaxy Chromatography Data System Software (Varian). Zur präparativen Trennung der HBCD-Enantiomere wurde eine chirale NUCLEODEX β -PM Säule (5 μ m, 250 x 21 mm ID) der Macherey-Nagel GmbH & Co. KG (Düren, Deutschland) verwendet. Als Eluent wurde eine Mischung, bestehend aus Acetonitril und Wasser (80 : 20, v : v), isokratisch bei einem Fluss von 5 mL min⁻¹ eingesetzt. Die weiteren Methodenparameter sind der Tabelle 11 zu entnehmen.

Tabelle 11: Methodenparameter zur enantiomerenspezifischen Isolierung von (+)- und (-)- γ -HBCD unter Verwendung eines präparativen HPLC-Systems.

Methodenparameter	
Lösungsmittel	Acetonitril : Wasser (80 : 20, v : v)
Elution	isokratisch
Injektionsvolumen	100 μ L
Flussrate	5 mL min ⁻¹
Säulenofentemperatur	30 °C
Post-run	15 min
Detektionswellenlänge	208 nm

Im Anschluss an das Sammeln der jeweiligen Enantiomerenfraktionen wurden diese am Rotationsverdampfer eingengt, eingefroren und abschließend unter Zuhilfenahme einer Gefriertrocknungsanlage (Kapitel 3.4.1) vollständig getrocknet. Die Bestimmung der Reinheit der auf diese Weise isolierten HBCD-Enantiomere erfolgte mittels HPLC-MS/MS (Kapitel 3.10). Sie betrug für beide γ -HBCD-Enantiomere (99,4 \pm 0,1) Gew.-%.

3.8.1.2 Dotierung des Fischfutters mit (+)- bzw. (-)- γ -HBCD

Zur enantiomerenspezifischen Dotierung der kommerziell erworbenen Fischpellets mit γ -HBCD erfolgte zunächst die Herstellung von Dotierlösungen (Gehalt: 0,996 μ g g⁻¹) durch Lösen des jeweiligen Analyten in absolutem Ethanol. In einem 2 L Rundkolben wurden 750 g des Fischfutters vorgelegt, mit der entsprechenden Dotierlösung versetzt und 15 min intensiv gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Anschluss daran in einem Rotationsverdampfer (85 °C, 600 mbar) vorsichtig bis zur Trockene eingengt und anschließend für 24 Stunden bei 40 °C im Trockenschrank nachgetrocknet. Insgesamt 5 kg des handelsüblichen Fischfutters wurden auf diese Weise mit 2 L der jeweiligen enantiomerenspezifischen γ -HBCD-Dotierlösung versetzt. Die dotierten Fischpellets wurden zum Schluss mit weiteren 5 kg des unbehandelten Fischfutters vermischt, im Rhönradmischer für 12 Stunden homogenisiert und einer Kurzzeitsstabilitätsstudie (Dauer: drei Wochen) unterzogen. Die Lagerung des Futtermittels erfolgte bei -23 °C.

3.8.2 Haltung der Versuchstiere und deren Fütterung mit HBCD

Die Spiegelkarpfen wurden in geschlossenen Kreislaufanlagen (Abbildung 19) des Instituts für Binnenfischerei e. V. Potsdam-Sacrow gehalten, in denen eine für Speisefische praxisübliche Haltung und Versorgung der Tiere durchgeführt wurde (gemäß § 8 Tierschutzgesetz; [275]). Nach Überführung der

einsömmerigen Tiere in die Becken unterlagen diese vor Versuchsbeginn zunächst einer zweiwöchigen Adaptationsphase an die neuen Umweltverhältnisse. Zur Vermeidung der Kreuzkontamination von HBCD-Isomeren zwischen den Kreislaufanlagen über das Haltungswasser, erfolgte die Verfütterung der beiden γ -HBCD-Enantiomere an zwei Gruppen sowie einer Kontrollgruppe á 56 Karpfen in drei vonein-

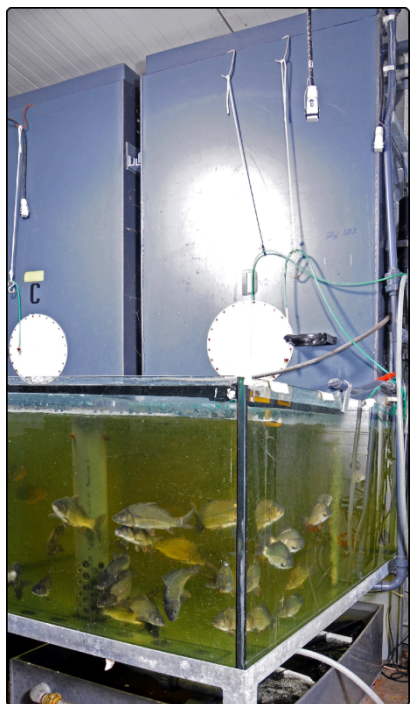


Abbildung 19: Kreislaufanlage (800 L) zur Haltung der Versuchstiere.

ander getrennten, geschlossenen Kreislaufanlagen. Im Anschluss an die Adaptationsphase wurde den Fischen über Einmischung in die tägliche Futterration jeweils (+)- bzw. (-)- γ -HBCD, bzw. im Falle der Kontrollgruppe, undotiertes Futter verabreicht. Die tägliche Futtermenge betrug 1,1 % des Körpergewichtes (basierend auf dem durchschnittlichen Gewicht der Versuchstiere der vorangegangenen Probenahme) und wurde für 107 Tage durchgeführt. Die arbeitstägliche Versorgung der Fische umfasste eine bedarfsgerechte Fütterung, die Beobachtung und Protokollierung der Fischgesundheit, ggf. des Verlustgeschehens sowie anstehende Reinigungsarbeiten. Darüber hinaus lag ein besonderes Augenmerk auf der Erfassung, Einstellung und Protokollierung der Wasserparameter Temperatur, Sauerstoffgehalt und pH-Wert. Durch täglichen Austausch von ca. 10 Vol.-% des Zirkulationswassers durch Frischwasser wurde eine Reduzierung des sich in geschlossenen Kreislaufanlagen anreichenden Nitrats erreicht. Abschließend erfolgte wöchentlich die Dokumentation der Gehalte an Ammonium, Nitrit und Nitrat.

3.8.3 Probenahme

Beginnend mit dem Tag 0 des Fischfütterungsversuches wurden in einem Abstand von zwei Wochen, an den Tagen 14, 28, 42, 56, 73, 90 und 107 jeweils weitere Gruppen von 6 bis 8 Fischen je Fütterungsgruppe gemäß Tierschutzschlacht-Verordnung (TierSchlV; [276]) von sachkundigem Personal (Fischwirt) aus den Haltungsbecken entnommen, durch Kopfschlag betäubt und mittels Herzstich entblutet. Nach der anschließenden Sektion wurden die Tiere vermessen, gewogen und unter permanenter Kühlung bei etwa 0 °C zur BAM transportiert. Hier erfolgte noch am selben Arbeitstag die Entnahme verschiedener Körpergewebe (Leber und Filetfleisch). Um bei diesen Schritten Kreuzkontaminationen zu vermeiden, wurde äußerste Sorgfalt auf die Reinigung sämtlicher Verbrauchsmaterialien und Geräte gelegt.

3.9 Untersuchungen zum Phase I- und Phase II-Metabolismus

3.9.1 Isolierung der hepatischen Fischmikrosomen

Die Aufarbeitung der Lebern von Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) und Spiegelkarpfen erfolgte analog zu bereits bekannten Vorgehensweisen [277,278]. Die hepatischen Gewebe wurden direkt im Anschluss an die Entnahme mit physiologischer Kochsalzlösung gereinigt und bis zur weiteren Verarbeitung bei -80 °C eingelagert. Um Denaturierungsprozessen entgegenzuwirken, erfolgten sämtliche Aufarbeitungsschritte bei max. 4 °C. Darüber hinaus wurde darauf geachtet, dass alle verwendeten Verbrauchsmaterialien und Lösungen ebenfalls gekühlt verwendet wurden. Zur Isolierung der Mikrosomen wurden zunächst etwa 5 g Leber mit einem Skalpell grob vorzerkleinert ($\leq 0,05 \text{ cm}^3$) und gemeinsam mit physiologischer Kochsalzlösung in ein Homogenisierungsgefäß (Elvehjem-Potter) überführt.

Um die Leberzellen schonend aufzuschließen sowie eine ausreichende Homogenität der Suspension zu gewährleisten, erfolgte die 15-malige Bearbeitung des Materials im Elvehjem-Potter bei 550 U min⁻¹. Die Homogenate wurden im Anschluss in Kunststoff-Tubes abgefüllt und für 20 Minuten bei 9.000 g und einer Temperatur von 4 °C in einer Eppendorf-Zentrifuge (Typ: 5417R, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) zentrifugiert. Hierdurch werden Zellkerne und Zellorganellen wie Mitochondrien und Lysosomen, pelletiert und sammeln sich aufgrund der Zentrifugalkräfte am Boden des jeweiligen Tubes an. Das sich in Lösung befindende Fett scheidet sich an der Oberfläche ab. Die so erhaltene Fraktion (sog. S9-Fraktion, abgeleitet von *supernatant* <Überstand> bei einer g-Zahl von 9.000) wurde mit einer Pasteur-Pipette abgenommen und bei -80 °C bis zur weiteren Verarbeitung gelagert. Zur anschließenden Ultrazentrifugation wurde eine OPTIMA™ L-80XP Ultrazentrifuge der Beckmann-Coulter GmbH (Krefeld, Deutschland) mit einem NVT™ Near-Vertical Tube Rotor eingesetzt.

Die Zentrifugation erfolgte für eine Stunde bei 105.000 g und 4 °C. Hierbei setzten sich die in der S9-Fraktion befindlichen Mikrosomen am Boden ab. Die überstehende Lösung, die das Cytosol enthält, wurde zur weiteren Aufbewahrung in 50 mL Polypropylen-Zentrifugengefäße dekantiert. Die Mikrosomen wurden in 1 mL isotonischer Kochsalzlösung erneut aufgeschlämmt, unter Einsatz des Potters abermalig homogenisiert und zentrifugiert. Die überstehende Waschlösung wurde im Anschluss daran verworfen. Die isolierten Mikrosomen wurden abschließend in 1 mL eines Puffers (Mic II-Puffer, Tabelle 12) aufgenommen, homogenisiert und bis zur Verwendung bei -80 °C gelagert.

Tabelle 12: Zusammensetzung des Mic II-Puffers.

Substanz	Konzentration (mM)
HEPES	25
EDTA-Na ₂ · 2H ₂ O	1,5
1,4-Dithiothreitol	1,0
Natriumchlorid	100

3.9.2 Charakterisierung der Lebermikrosomen

Um eine Aussage hinsichtlich der Aktivität der isolierten Fischlebermikrosomen treffen zu können, erfolgte deren Charakterisierung anhand der Proteinbestimmung nach Bradford [279] sowie der Bestimmung des Cytochrom-Gehaltes mittels Differenzspektroskopie [280]. Mit Hilfe parallel durchgeführter Charakterisierungen weiterer Lebermikrosomen (induzierte männliche SD- und nichtinduzierte männliche Lewis-Rattenlebermikrosomen) konnten die erhaltenen Daten bezüglich ihrer Aktivität besser miteinander verglichen und eingeordnet werden.

3.9.2.1 Bestimmung des Proteingehaltes nach Bradford

Die Ermittlung des Proteingehaltes der Lebermikrosomen erfolgte nach dem Verfahren von Bradford unter Einsatz eines Coomassie® Plus Assay Kits (Thermo Fischer Scientific, Waltham, USA). Das photometrische Verfahren beruht auf einer Verschiebung des Absorptionsmaximums des Farbstoffes Coomassie®-Blau in Anwesenheit von Proteinen. Durch Komplexierung mit Proteinen in saurer Umgebung resultiert ein bathochromer spektraler Shift vom rotbräunlichen Farbton des ungebundenen Farbstoffes (Absorptionsmaximum: 465 nm) hin zu einer blauen Färbung (Absorptionsmaximum: 610 nm). Der Absorptions-Unterschied der beiden Verbindungen ist bei 595 nm am größten, sodass bei dieser Wellenlänge die Messungen zur Quantifizierung des Proteingehaltes mit der geringsten Messunsicherheit erfolgt. Die Durchführung des Versuches erfolgte entsprechend der Arbeitsanweisung des Assay Kits. Zunächst wurden unter Verwendung eines Kalibrierstandards, bestehend aus Rinderalbumin (*Bovine Serum Albumin*, BSA) in einer wässrigen Lösung von 0,9 Gew.-% Natriumchlorid und 0,05 Gew.-% Natriumazid, Kalibrierlösungen im Bereich zwischen 0,0 und 1.500 µg mL⁻¹ BSA angesetzt, mit Coomassie®-Farbstoff versetzt, geschüttelt und an einem Absorptionsspektrometer Cary

5000 (Varian, Waldbronn, Deutschland) vermessen. Die hepatischen Mikrosomen wurden im Vorfeld der weiteren Verfahrensschritte 1 : 50 mit bidestilliertem Wasser verdünnt. 10 µL der so verdünnten Lebermikrosomen- bzw. Standardlösungen sowie bidestilliertes Wasser (als Blindwert) wurden in je ein Well der Mikrotiterplatte pipettiert und mit 300 µL Bradford-Reagenz versetzt. Nach kurzem Schütteln im Mikrotiterplattenreader wurden die Lösungen bei 595 nm gegen den Blindwert gemessen. Die Ermittlung des Proteingehaltes erfolgte durch Berechnung über die externe Kalibrierung.

3.9.2.2 Bestimmung des Cytochromgehaltes mittels Differenzspektroskopie

Der Ermittlung des Cytochrom P450-Gehaltes lag das photometrische Verfahren nach Omura und Sato zugrunde. Hierbei führt die Bindung von eingeleitetem Kohlenmonoxid (CO) an das Eisen der prosthetischen Gruppe der Cytochrome zu einer Verschiebung des Absorptionsmaximums. Aus der Differenz der Absorptionswerte bei 450 und 490 nm kann der Cytochrom-Gehalt ermittelt werden. Zunächst wurden die Mikrosomenansätze mit Kaliumphosphatpuffer (pH 7,4; inkl. 0,1 M Magnesiumchlorid) auf einen Gehalt von 1 mg Protein mL⁻¹ verdünnt, um anschließend durch Zugabe einer Spatelspitze (ca. 1 mg) Natriumdithionit die Reduktion des Häm-Eisens des Cytochroms zu erreichen. Nach 5 min Reaktionszeit, Homogenisieren der Lösung und Überführen in eine Glasküvette wurde das erste Spektrum mit einem CARY 100 Scan UV-Visible Spectrophotometer von Varian (Waldbronn, Deutschland) aufgenommen. Die Auswertung der Daten erfolgte über die CaryWinUV-Software (Varian). Im Folgenden wurde in die Lösung über die Dauer von einer Minute Kohlenstoffmonoxid (Blasenstrom: ca. 3-4 Bläschen s⁻¹) eingeleitet. Nach erfolgter Begasung wurde das Spektrum des gebildeten Kohlenstoffmonoxid-Komplexes aufgenommen. Die Gehalte wurden in einer Doppelbestimmung unter Verwendung der folgenden Gleichung 2 ermittelt:

$$c_{\text{Cytochrom}} \text{ (nmol mL}^{-1}\text{)} = \frac{(\Delta E_{450} - \Delta E_{490}) \times VF}{\epsilon \times d} \quad (2)$$

ΔE_{450} : Differenz der Extinktion des Cytochrom-CO-Komplexes zum freien Cytochrom bei 450 nm

ΔE_{490} : Differenz der Extinktion des Cytochrom-CO-Komplexes zum freien Cytochrom bei 490 nm

VF: Verdünnungsfaktor der entsprechenden Mikrosomen-Lösung

ϵ : Extinktionskoeffizient des Cytochrom-CO-Komplexes (mL cm⁻¹nmol⁻¹)

d: Schichtdicke der Küvette in cm

3.9.3 Mikrosomale Inkubation von HBCD

3.9.3.1 Trennung der HBCD-Enantiomere mittels HPLC

Die chromatographische Trennung und anschließende Isolierung der α - und γ -HBCD-Enantiomere sowie des β -HBCD-Diastereomers erfolgte analog des bereits beschriebenen Verfahrens unter Verwendung einer präparativen HPLC (Kapitel 3.8.1.1).

3.9.3.2 Experimentelle Vorgehensweise zur Untersuchung des Phase I-Metabolismus

Die Inkubation der Lebermikrosomen mit den jeweiligen Enantiomeren, Diastereomeren sowie einem äquimolaren HBCD-Diastereomeren-Gemisches wurde in Mikro-Zentrifugen-Tubes bei 37 °C im Falle der Human- und Rattenlebermikrosomen bzw. bei 20 °C bei den Fischlebermikrosomen durchgeführt. In Abhängigkeit von der jeweiligen Fragestellung (bspw. Beobachtung der Abbauprodukte oder der Ermittlung der Reaktionskinetik) wurden Lösungen der HBCD-Stereoisomere in DMSO im Bereich zwischen 0,0614 und 0,950 µM verwendet. Die Inkubationen wurden stets in 200 µL-Ansätzen durchgeführt, bestehend aus 2 µL in DMSO gelöstem HBCD, 5 µL (im Falle der induzierten Rattenlebermikrosomen) bzw. 20 µL mikrosomaler Suspension, die im Anschluss auf 190 µL mit einem Kaliumphosphatpuffer (pH 7,4; inkl. 0,1 M Magnesiumchlorid) aufgefüllt und für 3 min bei 37 °C bzw. 20 °C

vorinkubiert wurden. Durch abschließende Zugabe von 10 μL einer 0,67 mM NADPH-Lösung wurde die Reaktion initiiert und auf einem HLC Heating-ThermoMixer MHR 13 (DITABIS - Digital Biomedical Imaging Systems AG, Pforzheim, Deutschland) bei entsprechender Temperatur inkubiert. Zur Identifizierung möglicher Phase I-Metabolite betrug die Inkubationsdauer 50 min. Zur Ermittlung der Reaktionskinetik wurden die Reaktionen nach je 0, 5, 10, 20, 30, 40 und 50 min durch Zugabe von 200 μL auf 4 °C gekühltem Ethylacetat gestoppt. Die Konzentrationsabhängigkeit der Biotransformation der HBCD-Isomere wurde nach einer Inkubationsdauer von 30 min untersucht. Nach dem Quenchen der Reaktion wurde der Inkubationsansatz dreimal mit je 200 μL kaltem Ethylacetat unter Verwendung eines Vortex Schüttlers (Heidolph, Schwabach, Deutschland) extrahiert. Die organischen Überstände wurden vereinigt und das Lösungsmittel unter leichtem Stickstofffluss bei 40 °C bis zur Trockene eingengt. Nach Wiederaufnahme des Rückstandes in 200 μL Methanol und abschließender Zentrifugation (10 min bei 9.655 g) konnte die Lösung zur Analyse mittels HPLC-MS/MS (Kapitel 3.10) eingesetzt werden. Ein Fließschema zum Ablauf der Inkubationsansätze ist in Abbildung 20 dargestellt. Als qualitätssichernde Maßnahme wurde jeder Ansatz in einer Doppelbestimmung ausgeführt. Darüber hinaus wurden Leerwertproben (ohne HBCD-Zusatz) sowie Reaktionskontrollen (ohne den Zusatz von NADPH) bei jeder Sequenz mitgeführt, um evtl. auftretende Blindwerte zu identifizieren bzw. die Funktionstüchtigkeit des enzymatischen Systems zu überprüfen. Mit der Zielsetzung, die HBCD-Gehalte nach der Inkubation zu quantifizieren, wurden den Ansätzen (inkl. Leerwert- und Kontrollproben) nach dem Quenchen der Reaktion etwa 20 μL eines internen Standard-Gemisches (Gehalte: je 450 ng g⁻¹, α -, β - und γ -¹³C₁₂-HBCD in Methanol) gravimetrisch kontrolliert zugegeben. Die Quantifizierung der Stereoisomere erfolgte über eine externe Kalibrierung.

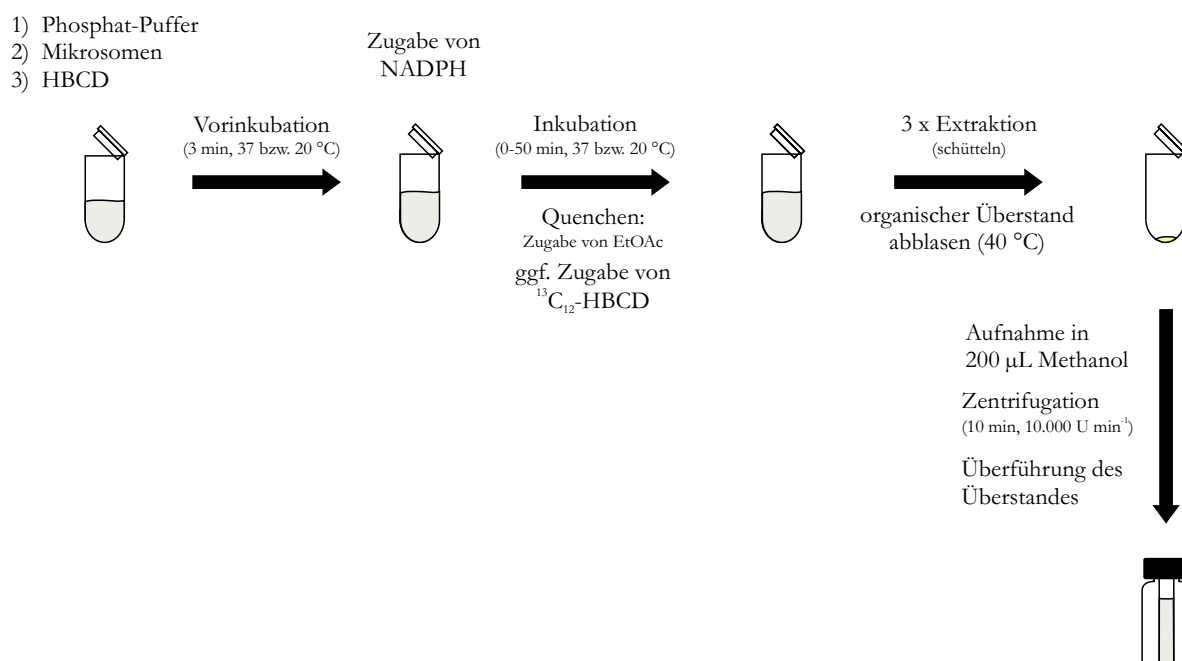


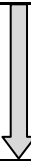


Abbildung 20: Ablaufschema zum Phase I-Metabolismus von HBCD.

3.9.3.3 Ablauf der Phase II-Metabolismus-Untersuchungen

Die Untersuchungen hinsichtlich der *in vitro*-Glucuronidierung mit Rattenlebermikrosomen (Konjugationsreaktionen) im Rahmen des Phase II-Metabolismus wurden in Mikro-Zentrifugen-Tubes durchgeführt und hatten je Ansatz ein Gesamtvolumen von 190 μL . In Tabelle 13 ist der Ablauf eines typischen Reaktionsansatzes zur Glucuronidierung von HBCD mit den einzelnen Komponenten dargestellt. Der durchgeführte kombinierte Ansatz basiert zunächst auf einem mit Magnesiumchlorid versetzten Phosphatpuffer (0,1 M Kaliumphosphatpuffer, pH 7,4 in Gegenwart von 10 mM MgCl₂) und der Zugabe von induzierten Rattenlebermikrosomen sowie von Alamethicin. Das Peptid-Antibiotikum Alamethicin

dient hierbei als porenformende Substanz, welches sich in die Membran des Endoplasmatischen Retikulums einlagert [281,282].

Tabelle 13: Ablaufschema zur Untersuchung des Phase II-Metabolismus von HBCD.

Reagenzien	Endkonzentration im Ansatz	
Phosphatpuffer	100 mM	
Magnesiumchlorid	10 mM	
Alamethicin	25 µg mL ⁻¹	
Induzierte Rattenlebermikrosomen	0,25 mg mL ⁻¹	
Vorinkubation im Eisbad (10 min)		
Analyt (HBCD)	0,5 µM	
D-Saccharinsäure-1,4-Lacton	5 mM	
Inkubation bei 37 °C (5 min)		
NADPH	0,67 mM	
UDPGA	4 mM	
Inkubation bei 37 °C (90 min)		

Im Anschluss an eine 10minütige Inkubation im Eisbad erfolgte die Zugabe des jeweiligen HBCD-Diastereomers bzw. -Enantiomers sowie von D-Saccharinsäure-1,4-Lacton, welche als Inhibitor der β -Glucuronidase fungiert und somit einer Hydrolyse der evtl. gebildeten Glucuronide entgegenwirken soll. Nach erneuter Inkubation bei 37 °C (5 Minuten) erfolgte die Zugabe der Co-Faktoren bzw. im Falle der Blindprobe von weiterem Phosphat-Puffer. Die abschließende Inkubation wurde ebenfalls bei 37 °C über die Dauer von 90 min durchgeführt. Das Quenchen der Reaktion sowie die Extraktion der Metabolite wurde analog der Vorgehensweise im Rahmen des Phase I-Metabolismus (Kapitel 3.9.3.2) mit eiskaltem Ethylacetat durchgeführt. Die unter Stickstoffstrom eingegangenen Extrakte wurden mit jeweils 200 µL Methanol aufgenommen und nach abschließender Zentrifugation (10 min bei 9.655 g) mittels HPLC-MS/MS (Kapitel 3.10) analysiert. Zur Qualitätssicherung erfolgten sämtliche Ansätze stets in doppelter Ausführung. Ergänzend dazu wurden zu jedem untersuchten Analyt ein Blindwert (ohne Zugabe der Co-Faktoren) sowie ein Reagenzienblindwert (ohne Zugabe des Analyten) mitgeführt.

3.10 Analytik mittels HPLC-MS/MS

Ziel der Optimierung des angewandten Analysenverfahrens war es, eine verlässliche Messmethode zur enantiomerenspezifischen Quantifizierung von HBCD zu etablieren, um Fragestellungen hinsichtlich potentieller HBCD-Kontaminationen in diversen Biota-Matrices bearbeiten zu können. Die zur Bearbeitung der aufkommenden Probenmengen im Rahmen des Fischversuchsvorhabens (Analytik des Fischfutters sowie der Fischmatrices) eingesetzte Methode basiert auf dem Analysenverfahren von Köppen *et al.* [14,145]. Die chromatographische Trennung der HBCD-Enantiomere sowie deren Abtrennung von verbleibenden Matrixbestandteilen wurde unter Einsatz eines HPLC-Systems der 1100 Serie der Firma Agilent, bestehend aus einem Vakuum-Degaser, einem temperierbaren Autosampler und einem Säulenofen durchgeführt. Als stationäre Phase diente hierbei eine Kombination aus einer RP-C₁₈- (Zorbax XDB-C₁₈; Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) und einer chiralen β -PM-Cyclodextrin-Säule (NUCLEODEX β -PM (Macherey-Nagel)). Der Innendurchmesser beider Säulen betrug jeweils 4,6 mm, die Partikelgröße 5 µm und die Länge im Falle der C₁₈-Säule 150 mm und bei der chiralen Säule 200 mm. Zur Detektion diente ein *triple-stage-quadrupol* (TSQ) Massenspektrometer des Typs API 4000TM (AB Sciex, Darmstadt, Deutschland), ausgestattet mit einer Turbo-Ion-Spray-Ionenquelle (TIS). Der Aufbau der Anlage ist in Abbildung 21 dargestellt. Die Messdaten wurden mit dem Software-Paket Analyst 1.4.1 (AB Sciex) aufgezeichnet und ausgewertet. Tabelle 14 fasst die wesentlichen Methodenparameter der für die quantitative Bestimmung der HBCD-Enantiomere im Rahmen der Biointerkonvertierungs-Untersuchungen eingesetzten Messmethode zusammen.

Tabelle 14: HPLC-MS/MS-Parameter unter Verwendung der API 4000™.

HPLC-Parameter	
Lösungsmittel A	Acetonitril : Methanol (90 : 10, v : v)
Lösungsmittel B	10 mM Ammoniumacetat
Elution	isokratisch (Verhältnis 90 : 10, A : B)
Autosamplertemperatur	15 °C
Injektionsvolumen	20 µL
Flussrate	300 µL min ⁻¹
Säulenofentemperatur	15 °C
Gesamtlaufzeit	36 min

Abbildung 21: HPLC-MS/MS für die Analytik der Karpfenproben.

MS-Parameter [14]	
Ionisierungsart	Turbo Ion Spray (TIS)
Ionisierungsmodus	negativ
Detektionstechnik	Multiple Reaction Monitoring (MRM)
Declustering Potential	-30,0 V
Entrance Potential	-10,0 V
Collision Energy	-40,0 V
Collision Cell Exit Potential	-6,0 V
Collision gas	4 a.u.
Curtain gas	20 a.u.
Ion Source Gas 1	40 a.u.
Ion Source Gas 2	30 a.u.
Ion Spray Voltage	-4.500 V
Temperatur	450 °C
Resolution	unit

Die sechs Stereoisomere des HBCDs, (\pm)- α -, (\pm)- β - und (\pm)- γ -HBCD wurden unter Verwendung der Isotopenverdünnung-Massenspektrometrie mit den entsprechenden Massenübergängen des nativen (m/z 640,6 \rightarrow 79,0) sowie des ¹³C₁₂-markierten HBCDs (m/z 652,6 \rightarrow 79,0) zum Brom-Ion quantifiziert.

Mit dem Ziel, die enantiomerenspezifische Analytik von HBCD in Biotaprobe schneller und sensibler zu gestalten, wurde im Rahmen einer Neuanschaffung eine entsprechende HPLC-MS/MS-Messmethode entwickelt. Hierfür stand ein HPLC-System der 1200er Serie von Agilent mit Autosampler, Hochdruckgradientenmischer und Säulenthermostat, ein 4000 QTRAP® Massenspektrometer von AB Sciex sowie zur Datenauswertung ein Analyst Software-Paket der Version 1.5.1 zur Verfügung (Abbildung 22). Bei diesem HPLC-MS/MS-System handelt es sich im Gegensatz zum API 4000® um ein Hybrid-System, d. h. ein Triple-Quadrupol Massenspektrometer mit linearer Ionenfalle.

Als stationäre Phase wurden hierbei eine Kopplung aus einer Agilent XDB C₁₈-(150 mm x 4,6 mm, 1,8 µm) und einer Nucleodex β -PM-Säule (200 mm x 4,6 mm; 5 µm) zur Trennung der HBCD-Stereoisomere verwendet. Die Methodenparameter sind in Tabelle 15 zusammengestellt. Die Optimierung der MS/MS-Parameter erfolgte mittels Fließinjektionsanalyse (FIA). Hierfür wurde ein isokratischer Fluss von 300 µL min⁻¹ bei gleicher Eluentenzusammensetzung (Lösungsmittelzusammensetzung zu Beginn der chromatographischen Methode (H₂O : ACN/MeOH (9 : 1), 15 : 85, v : v) eingestellt. Im Gegensatz zur zuvor erstellten Messmethode wurde die chromatographische Trennung der HBCD-Enantiomere hier unter Verwendung eines leichten Lösungsmittelgradienten erreicht.

Tabelle 15: HPLC-MS/MS-Parameter unter Verwendung der API 4000 QTRAP®.

HPLC-Parameter	
Lösungsmittel A	Acetonitril : Methanol (90 : 10, v : v)
Lösungsmittel B	10 mM Ammoniumacetat
Elution	Gradient (siehe unten)
Autosamplertemperatur	15 °C
Injektionsvolumen	10 µL
Flussrate	600 µL min ⁻¹
Säulenofentemperatur	15 °C
Gesamtlaufzeit	30 min

HPLC-Lösungsmittelgradient			
Zeit (min)	Flussrate (µL min ⁻¹)	A (%)	B (%)
0,00	600	15,0	85,0
3,00	600	12,0	88,0
22,00	600	12,0	88,0
22,01	600	15,0	85,0
30,00	600	15,0	85,0

MS-Parameter	
Ionisierungsart	TIS
Ionisierungsmodus	negativ
Detektionstechnik	MRM
Declustering Potential	-30,0 V
Entrance Potential	-10,0 V
Collision Energy	-40,0 V
Collision Cell Exit Potential	-6,0 V
Collision gas	4 a.u.
Curtain gas	15 a.u.
Ion Source Gas 1	90 a.u.
Ion Source Gas 2	70 a.u.
Ion Spray Voltage	-2.000 V
Temperatur	450 °C
Resolution	unit

**Abbildung 22:** 1200er Agilent HPLC gekoppelt mit einem API 4000 QTRAP® (AB Sciex).

Die Quantifizierung erfolgte ebenfalls mittels Isotopenverdünnung. Für ¹³C₁₂- und natives HBCD wurde jeweils ein spezifischer Übergang aufgenommen (Tabelle 16). Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Messmethode in Kombination mit der Probenvorbereitung und -aufarbeitung validiert, etabliert und zur Analytik der Fischproben aus Norwegen sowie der Möweneier eingesetzt.

Tabelle 16: MRM-Übergänge zur Identifizierung und Quantifizierung von HBCD.

Substanz	Ion Q1	Quantifier-Ion	Qualifier-Ion
HBCD	640,6	79,0	81,0
¹³ C ₁₂ -HBCD	652,4	79,0	

Die Analytik der Mikrosomenversuche erfolgte ebenfalls unter Verwendung dieser Systemkopplung, wobei für die Übergänge der mono- bzw. dihydroxylierten Verbindungen die Übergänge m/z 656,7 → 79,0 bzw. m/z 672,6 → 79,0 untersucht wurden. Die Ermittlung der einzelnen massenspektrometrischen Parameter erfolgte ebenfalls mittels FIA (Tabelle 17).

Tabelle 17: Massenspektrometrische Parameter zur Analyse von Mono- und Dihydroxy-HBCD.

MS-Parameter	Monohydroxy-HBCD (m/z 656,7 → 79,0)	Dihydroxy-HBCD (m/z 672,6 → 79,0)
Ionisierungsart		TIS
Ionisierungsmodus		negativ
Detektionstechnik		MRM
Declustering Potential	-35,0 V	-35,0 V
Entrance Potential	-10,0 V	-12,0 V
Collision Energy	-60,0 V	-50,0 V
Collision Cell Exit Potential	-5,0 V	-5,0 V
Collision gas	12 a.u.	12 a.u.
Curtain gas	10 a.u.	10 a.u.
Ion Source Gas 1	90 a.u.	90 a.u.
Ion Source Gas 2	70 a.u.	70 a.u.
Ion Spray Voltage	-4.500 V	-4.500 V
Temperatur	550 °C	550 °C
Resolution	unit	unit

3.11 Qualitätssichernde Maßnahmen im Rahmen der HBCD-Analytik

Zur Validierung des entwickelten Analysenverfahrens wurden die Kenndaten Linearität, Arbeitsbereich, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze, Richtigkeit, Präzision und Selektivität sowie die Messunsicherheit in Anlehnung an die Europäische Norm EN ISO/IEC 17025: 2005 (Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien) sowie der CEN-Norm CEN/TC 230 (*Water Quality – Guideline to the validation of analytical methods*) ermittelt und bewertet (Kapitel 4.2; [283,284]).

Die quantitative Ermittlung der HBCD-Stereoisomere basiert im vorgestellten Analysenverfahren auf dem Prinzip der Isotopenverdünnung unter Verwendung von $^{13}\text{C}_{12}$ - α -, β - und γ -HBCD und externer Kalibrierung (12-Punkt-Kalibrierung im Gehaltsbereich zwischen 26 $\mu\text{g g}^{-1}$ und 130 ng g^{-1}). Die Kalibrierlösungen wurden, in Abhängigkeit der Anzahl der zu analysierenden aufgereinigten Probenextrakte, über die Messsequenz verteilt mindestens zweimal ($m = 2$) injiziert.

Im Zuge jeder Aufarbeitungsserie wurden vier Reagenzienblindwerte mitgeführt, um im Rahmen der Datenauswertung die Hintergrundbelastung berücksichtigen zu können. Von jeder zu analysierenden Probe wurden zwei (nur Möweneier) bis vier Teilproben (Aliquote) parallel aufgearbeitet und mittels HPLC-MS/MS dreifach gemessen ($n = 2/4$, $m = 3$). Zwischen den Probeninjektionen erfolgten Spülinjektionen mit reinem Methanol, um potentiellen Verschleppungen vorzubeugen. Darüber hinaus erfolgten Doppelanalysen ($n = 2$, $m = 3$) eines hausinternen Hühnerei-Referenzmaterials (Kapitel 3.7). Die Messergebnisse wurden in eine Shewhart-Regelkarte eingetragen, mit deren Hilfe neben der Identifizierung signifikanter zufälliger Fehler auch systematische Fehler aufgedeckt werden [285]. Für die Erstellung dieser Qualitätsregelkarte wurden zunächst die Ergebnisse einer Vorperiode ($n = 34$) laufend notiert. Der Mittelwert sowie die daraus errechnete Standardabweichung dieser Vorperiode dienten zur Erstellung der Regelkarte (Abbildung 23), wobei der Mittelwert der Vorperiode die Zentrallinie der Karte und die zwei- und dreifachen Standardabweichungen die Warn- und Kontrollgrenzen darstellen [285].

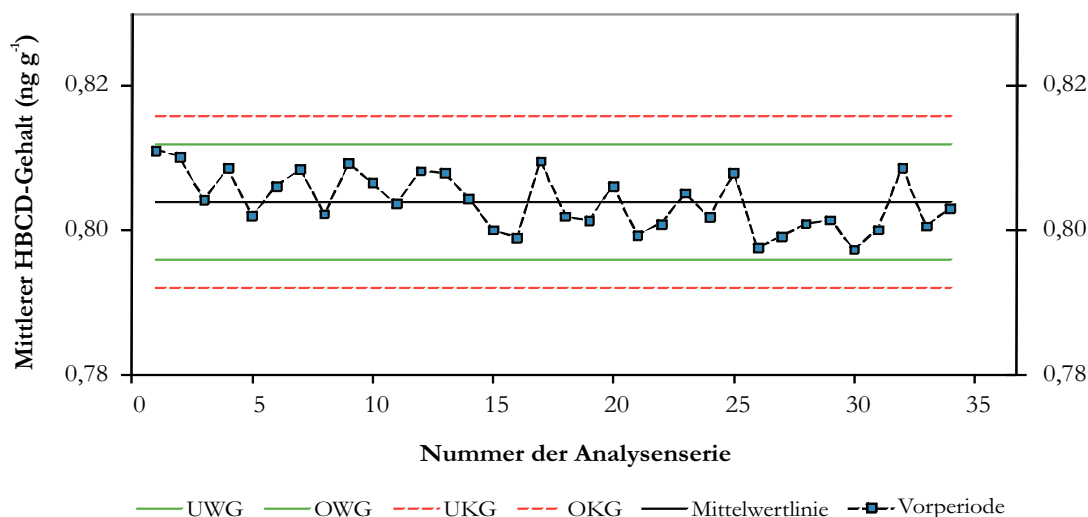


Abbildung 23: Shewhart-Regelkarte des hausinternen Referenzmaterials von (-)- α -HBCD (34 Datenpunkte der Vorperiode); UWG/OWG: untere und obere Warngrenze (Mittelwert \pm 2-fache Standardabweichung), UKG/OKG: untere und obere Kontrollgrenze (Mittelwert \pm 3-fache Standardabweichung).

3.12 Verwendete Analysenverfahren zur Charakterisierung der Biotaprobten

3.12.1 Ermittlung der Kohlenstoff- und Stickstoff-Isotopien

Mittels Bestimmung der Anteile stabiler Isotope, im Speziellen durch die Ermittlung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in biotischen Proben, ist es möglich, Aussagen sowohl über Position von Organismen innerhalb der Nahrungskette als auch über zeitliche Veränderungen, bspw. der Änderung des Nahrungsangebotes, zu treffen. Zudem wird der Nachweis stabiler Isotope genutzt, um den Stofffluss entlang der Nahrungsketten zu beschreiben und Wechselwirkungen innerhalb dieser zu erklären. Im Gegensatz zu $\delta^{15}\text{N}$ gibt der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert Auskunft darüber, aus welcher Quelle der Kohlenstoff in die Nahrungskette eingetragen wurde. Die Ursache dieses Befundes liegt darin, dass die stabilen ^{13}C - und ^{12}C -Isotope bei biogeochemischen Prozessen zu unterschiedlichen Anteilen genutzt werden, was zu charakteristischen $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der wichtigsten Kohlenstoffquellen führt. Weitere Verhältnisse natürlich vorkommender stabiler Isotope, die zur Aufklärung hinsichtlich des Nahrungsspektrums von Vogeleiern beitragen können, sind z. B. $\delta^{34}\text{S}$ und $\delta^{18}\text{O}$. Mit diesen Werten sind im Wesentlichen Aussagen zur Meeresnähe der aufgenommenen Nahrung möglich.

Die Stabil-Isotopen-Analyse ist eine Methode zur Bestimmung der Isotopenhäufigkeiten der Elemente Wasserstoff, Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel in verschiedensten Kompartimenten unter Verwendung einer Kopplung aus einem Elementaranalysator und einem Isotopen-Verhältnis-Massenspektrometer. Im Falle des Kohlenstoffs wird dabei das entsprechende Isotopenverhältnis der Probe $R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Probe}}$ mit dem Isotopenverhältnis einer international festgelegten Referenzsubstanz $R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Standard}}$ (*Vienna Pee Dee Belemnite* <VPDB>) verglichen. Der resultierende Unterschied im Isotopenverhältnis, ausgedrückt als δ -Wert in ‰, wird für die weitere Interpretation verwendet (Gleichung 3):

$$\delta^{13}\text{C} = \left(\frac{R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Probe}}}{R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Standard}}} - 1 \right) \cdot 1.000 \quad (3)$$

Analog werden die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte mit $R(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})$ berechnet und als Vergleichsstandard die Umgebungsluft (*Ambient Inhalable Reservoir* <AIR>) verwendet.

Der Elementaranalysator arbeitet nach dem Prinzip der katalytischen Rohrverbrennung unter Sauerstoffzufuhr und hohen Temperaturen. Die jeweils gewünschten Messkomponenten (N_2 , CO_2 , SO_2 , H_2) werden mit Hilfe von spezifischen Adsorptionssäulen voneinander getrennt und nacheinander mit einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor bestimmt. N_2 wird ohne Adsorption auf einer Trennsäule sofort gemessen. Die Komponenten CO_2 , H_2 und SO_2 werden in dieser Reihenfolge durch Erwärmung der Adsorptionssäulen heruntergespült. Als Spül- und Trägergas dient Helium (He).

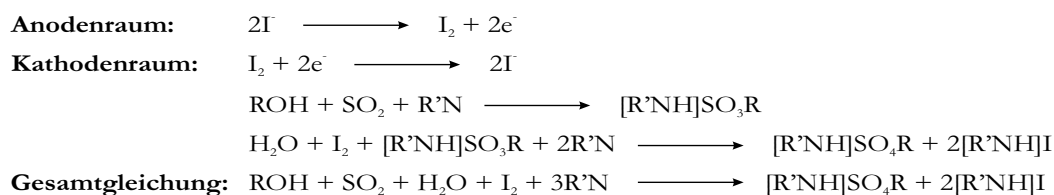
Die Messkomponenten gelangen nacheinander in das Isotopen-Verhältnis-Massenspektrometer (*Isotope-ratio mass spectrometry*, IRMS), wo die Ionen einer Messkomponente mit einem Multikollektor-System, bestehend aus drei Faraday-Cups, detektiert werden. Das bedeutet, dass alle Isotope einer Messkomponente gleichzeitig gemessen werden. Zwischen den einzelnen Messkomponenten wird immer das entsprechende Referenzgas analysiert. Die Isotopie der Referenzgase wurde zuvor mit einer internationalen Referenzsubstanz (USGS40: L-Glutaminsäure; IAEA-S-1: Silbersulfid) bestimmt. Als Kontrollprobe zur Überprüfung des Verbrennungsprozesses im Elementaranalysator wurde Casein verwendet, welches ebenfalls als Qualitätskontrollprobe für die Ermittlung der δ -Werte des IRMS verwendet wird.

Im Vorfeld der eigentlichen Ermittlung der δ -Werte wurden 2-4 g jeder Probe mittels Soxhlet-Extraktor entfettet. Hierfür fand ein 70 mL-Extraktor mit entsprechenden Extraktionshülsen (28 x 120 mm) Verwendung, wobei vier Stunden mit Petrolether extrahiert wurde. Im Anschluss wurde die lipidhaltige Petroletherphase verworfen und die noch im Rückstand enthaltenen Petroletherreste unter dem Abzug abgedampft. Die Isotopenvariationen konnten nun in den Proben mit dem EA-IRMS (EA: Vario EL III, Elementar Analysensysteme GmbH; IRMS: IsoPrime, GV Instruments) bestimmt werden ($n = 2$, Probeneinwaagen: 1,7-2,9 mg).

3.12.2 Bestimmung des Feuchtegehaltes mittels Karl-Fischer-Titration

Die Wassergehalte der Biotaprobe wurden unter Einsatz der Karl-Fischer-Titration (Eugen-Scholz-Methode) ermittelt [286-288]. Dieses Verfahren beruht auf der stöchiometrischen Reaktion von Wasser mit Iod in Gegenwart von Schwefeldioxid, Methanol und einer Base. Das zur Bestimmung verwendete Gerät ist ein mit einem Vial-Ofen ausgerüstetes KF-Coulometer der Firma Metrohm (Metrohm-KF-Coulometer 756, Metrohm AG, Herisau, Schweiz).

Für die Messungen wurden die gemahlenen und homogenisierten Proben (50 mg bzw. im Fall der Fischlebern 30-120 mg) jeweils für eine Doppelbestimmung in Vials mit Septum eingewogen. Die Probenvials wurden nach Konditionierung der KF-Apparatur im Vial-Ofen bei 103 °C ausgeheizt und das dabei freigesetzte Wasser mit Hilfe eines Stickstoff-Trägergasstromes (60 mL min^{-1}) in den Anodenraum der Titrierzelle eingeleitet. Der Anodenraum enthält das iodidhaltige Karl-Fischer-Reagenz, aus dem durch anodische Oxidation *in situ* elementares Iod erzeugt wird. Als basischer Puffer dient hierbei Imidazol ($\text{R}'\text{N}$). Das Iod reagiert mit dem Anion der methylschwefeligen Säure unter Wasserverbrauch zu Methylsulfat. Die der Karl-Fischer-Titration zugrundeliegenden Reaktionsgleichungen (Gleichung 4) zeigen, dass nur in Gegenwart von Wasser stöchiometrische Reaktionen zwischen dem Alkohol, der Base, dem Schwefeldioxid und dem gebildeten Iod ablaufen.



Gleichung 4: Reaktionsweg der Karl-Fischer-Titration (Eugen-Scholz-Methode).

Der Endpunkt der Titration, an dem meist ein leichter Überschuss an Iod besteht, kann potentiometrisch durch Beobachtung des steilen Stromanstiegs zwischen den zwei polarisierbaren Elektroden (Platin-Doppelelektrode) erfasst werden. Die Berechnung des Wassergehaltes (Gleichung 5) basiert auf der quantitativen Korrelation zwischen der elektrischen Ladungsmenge und der Menge des gebildeten Iods.

$$\text{Wassergehalt } (\mu\text{g g}^{-1}) = \frac{m_{\text{H}_2\text{O, Probe}} - m_{\text{H}_2\text{O, Blindwert}}}{m_{\text{Probe}}} \quad (5)$$

Als Vergleichsprobe diente ein Wasserstandard (34693 HYDRANAL-Water Standard KF-Oven 140-160 °C Lot 7213B) mit bekanntem Wassergehalt, welcher in jeder Messsequenz mitgeführt wurde. Die Bearbeitung eines Reagenzienblindwertes diente zur evtl. Korrektur der jeweiligen Ergebnisse.

3.13 Synthese von Tetrabromcyclododecen-Isomeren

Die Synthese von 1*E*,5*R*,6*S*,9*S*,10*S*- bzw. 1*E*,5*R*,6*R*,9*R*,10*S*- und 1*Z*,5*S*,6*R*,9*R*,10*S*-TBCD wurde in Anlehnung an das von Smith *et al.* beschriebene Synthese-Verfahren durchgeführt [22] und basiert auf einer partiellen Bromierung des *cis,trans,trans*-1,5,9-Cyclododecatrien (*c,t,t*-CDT). Hiernach besteht die Möglichkeit, durch Wahl der Lösungsmittelzusammensetzung sowie der Reaktionstemperatur die Stereoselektivität der TBCD-Synthese zu steuern (Abbildung 24).

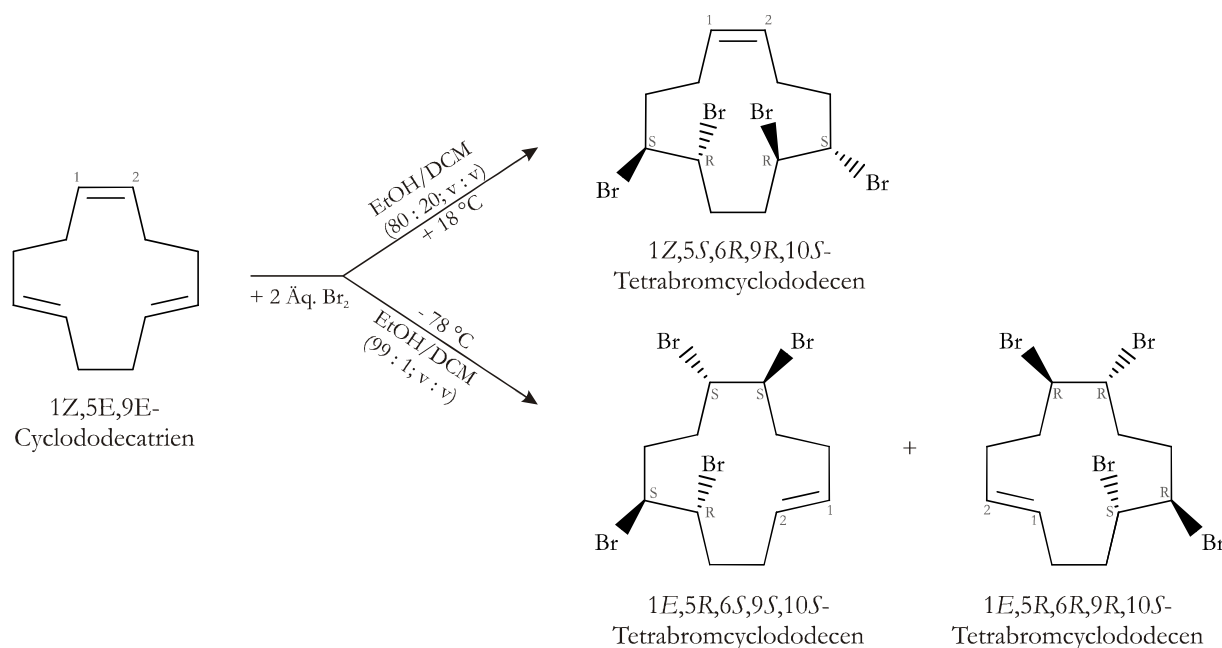


Abbildung 24: Schematische Darstellung der TBCD-Synthesen durch Bromierung von *c,t,t*-CDT.

Zur Synthese des von 1*E*,5*R*,6*S*,9*S*,10*S*- bzw. 1*E*,5*R*,6*R*,9*R*,10*S*-TBCD wurden 2,48 mL (13,6 mmol) *c,t,t*-CDT in einer Lösung von 0,25 mL Ethanol und 24,75 mL Dichlormethan vorgelegt. Die Lösung wurde anschließend unter kräftigem Rühren (Magnetrührer) mit Hilfe einer Aceton/Trockeneismischung auf ca. -78 °C abgekühlt. Währenddessen wurde eine Lösung von Brom (1,60 mL, 31 mmol) in einem Lösungsmittelgemisch aus 1 mL Ethanol und 99 mL Dichlormethan erstellt und nachfolgend über einen Tropftrichter tropfenweise in die gut gerührte CDT-Lösung überführt. Die Zugabe der Bromlösung erfolgte innerhalb von ca. 1,5 Stunden bei einer Temperatur von ca. -78 °C. Nach der vollständigen Zugabe der Brom-Lösung wurde die Reaktionsmischung etwa eine weitere Stunde gerührt. Die Kältemischung wurde dann vorsichtig auf Raumtemperatur gebracht und das Reaktionsgemisch weitere zwei Stunden gerührt. Das Entfernen des Lösungsmittels erfolgte anschließend im Unterdruck (von 950 bis 750 mbar) bei 40 °C am Rotationsverdampfer. Der entstandene weißliche Feststoff wurde auf eine Fritte gegeben und nacheinander sechsmal mit jeweils 5 mL gekühltem Ethanol (4 °C) gereinigt. Für die Umkristallisation mit Dichlormethan wurde der resultierende weiße Feststoff in einen 100 mL Einhals-

Rundkolben überführt und zunächst mit 20 mL Dichlormethan zum Sieden unter Rückfluss erhitzt. Die Filtration der noch heißen Lösung erfolgte über einem Faltenfilter mit anschließender Kristallisation bei 4 °C. Die entstandenen Kristalle wurden über eine Fritte von der Lösung abgetrennt und mit kaltem Ethanol gewaschen.

Die Synthese der *meso*-Form 1Z,5S,6R,9R,10S-TBCD erfolgte in einer analogen Vorgehensweise mit dem Unterschied, dass die Reaktionstemperatur hier +18 °C betrug und das Lösungsmittelgemisch aus Ethanol und Dichlormethan im Verhältnis 80 : 20 (v : v) bestand. Die Synthesen der zweiten *meso*-Form (1Z,5S,6R,9S,10R-TBCD) sowie des verbleibenden diastereomeren Enantiomerenpaares (1E,5R,6S,9R,10R-/1E,5S,6S,9R,10S-TBCD) erfolgte durch thermische Isomerisierung von 1Z,5S,6R,9R,10S- bzw. 1E,5R,6S,9S,10S-/1E,5R,6R,9R,10S-TBCD (2-4 mg) unter Argon bei 140 °C im Muffelofen.

3.14 Charakterisierung und Nachweis der synthetisierten TBCD-Isomere

3.14.1 Chromatographische Verfahren (GC-MS und HPLC-DAD)

Zur ersten Identifizierung der synthetisierten TBCD-Isomere aus dem jeweiligen Syntheseansatz wurden chromatographische Verfahren eingesetzt (Tabelle 18). Als GC-MS-Gerät wurde ein Agilent 6890N Gaschromatograph gekoppelt mit einem Agilent 5973N Massenspektrometer verwendet. Der Aufbau des analytischen HPLC-DAD-Systems bestand aus einem Entgaser (G1322A), einer binären Pumpe (G1312A), einem Autosampler (G1329A) mit Thermostat (G1330B), einem Säulenofen (G1316A) und einem DAD (G1365 A).

Tabelle 18: Methodenparameter zur Identifizierung der TBCD-Isomere mittels GC-MS und HPLC-DAD.

Methodenparameter GC-MS	
Injektionssystem	Split/Splitless-Injektor
Injektion	splitless
Injektortemperatur	250 °C
Injektionsvolumen	10 µL
Purge time	1 min
Purge flow	65 mL min ⁻¹
MS-System	Single Quadrupol (Agilent)
Transferline	300 °C
Ionisierungsmethode	EI (70 eV)
Ionenquelle	230 °C
Quadrupol-Temperatur	150 °C
Modus	Scan (m/z 50-600)
GC-Säule	Agilent DB-1 (30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm)
Flussrate	1,3 mL min ⁻¹ (konstanter Fluss)
Trärgas	Helium (5.0)
Säulenmaterial	100 % Dimethylpolysiloxane
Temperaturprogramm	110 °C (0,2 min) → 30 °C min ⁻¹ → 200 °C (0,0 min) → 20 °C min ⁻¹ → 300 °C (15 min)
Methodenparameter HPLC-DAD	
Lösungsmittel	Acetonitril (A), Wasser (B)
Elution	Gradient (siehe unten)
Autosamplertemperatur	15 °C
Injektionsvolumen	10 µL
Flussrate	500 µL min ⁻¹
Säulenofentemperatur	15 °C
Detektionswellenlänge (DAD)	208 nm

HPLC-Lösungsmittelgradient			
Zeit (min)	Flussrate ($\mu\text{L min}^{-1}$)	A (%)	B (%)
0,00	500	65,0	35,0
5,00	500	65,0	35,0
20,00	500	100,0	0,0

Darüber hinaus erfolgte die Untersuchung der TBCD-Isomere an einem HPLC-System der 1200er Serie von Agilent gekoppelt mit einem 4000 QTRAP® Massenspektrometer von AB Sciex, welches auch zur Analytik der Metabolisierungsversuche sowie zur quantitativen Bestimmung der HBCD-Gehalte in Silbermöweneiern eingesetzt wurde (Kapitel 3.10). Für die chromatographische Auftrennung der TBCD-Isomere fand eine Säulenkombination aus einer Zorbax XDB-C₁₈- (150 mm x 4,6 mm, 5 μm) und einer NUCLEODEX β -PM-Säule (200 mm x 4,6 mm, 5 μm) Anwendung. Die weiteren chromatographischen Bedingungen blieben gleich. Die massenspektrometrische Analyse erfolgte unter Beobachtung des Überganges vom Quasimolekülion ($[\text{M-H}]^-$) auf die Masse des Brom-Ions (m/z 480,8 \rightarrow 81,0; Tabelle 19).

Tabelle 19: Mittels FIA optimierte MRM-Parameter der TBCD-Isomere (am 4000 QTRAP®-Massenspektrometer).

MS-Parameter (m/z 480,8 \rightarrow 81,0)	
Ionisierungsart	TIS
Ionisierungsmodus	negativ
Detektionstechnik	MRM
Declustering Potential	-30,0 V
Entrance Potential	-10,0 V
Collision Energy	-40,0 V
Collision Cell Exit Potential	-1,0 V
Collision gas	4 a.u.
Curtain gas	20 a.u.
Ion Source Gas 1	60 a.u.
Ion Source Gas 2	10 a.u.
Ion Spray Voltage	-3.500 V
Temperatur	250 °C
Resolution	unit

3.14.2 Röntgeneinkristallstrukturanalyse

Zur Strukturaufklärung bzw. Charakterisierung der mittels Synthese bzw. thermischer Isomerisierung (Kapitel 3.13) hergestellten TBCD-Isomere wurden aus dem Umkristallisationsansatz je ein geeigneter Kristall mit möglichst idealen Kantenlängen von 0,1-0,3 mm ausgesucht und mit Bienenwachs auf einer Glas-Kapillare befestigt. Die Röntgeneinkristallstrukturanalyse wurde an einem Flächenzähler-Einkristall-Diffraktometer von Bruker AXD (Karlsruhe, Deutschland); ausgerüstet mit einem Smart Apex CCD Flächendetektor angefertigt. Die Messungen erfolgten mit graphitmonochromatisierter Mo-K α -Strahlung ($\lambda = 0,71073$ Å) bei Temperaturen zwischen 273 und 293 K. Die Datenreduktion erfolgte mittels der Software-Pakete SAINT und SADABS (Bruker) [289,290]. Die Struktur wurde über Direkte Methoden gelöst. Die Strukturverfeinerung erfolgte durch Berechnung nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate F^2 mittels SHELXTLV6.1 [291].

3.15 Theoretische Berechnungen der HBCD-Isomere an Cytochrom P450

Für die Simulation der Bindungsaffinitäten der HBCD-Stereoisomere zu den Bindungstaschen relevanter Cytochrome wurden in Zusammenarbeit mit dem Konrad-Zuse-Institut Berlin (ZIB) Berechnungen durchgeführt. Ziel war es zu klären, ob die simulierten Bindungsaffinitäten bzw. die relativen Absorption-

Desorptions-Raten der Wirt-Gast-Interaktionen mit den experimentellen Daten korreliert werden können. Hierbei erfolgten zunächst die Modellierung der Konformereräume der einzelnen HBCD-Stereoisomere und deren semi-flexibles Docking an die aktiven Stellen der Cytochrome. Die α - und γ -HBCD-Strukturen wurden gemeinsam mit dem ZIB bereits in einem zuvor abgeschlossenen Kooperationsprojekt simuliert [292] und konnten genutzt werden, um diese mit Hilfe der sog. *Flexible Alignment and Docking* Prozedur (FaDo; [293]) an die Bindungstaschen relevanter Cytochrome zu docken (Tabelle 20).

Tabelle 20: Ausgewählte Cytochrome und deren Beschreibung in der Proteindatenbank (PDB).

Cytochrom	Datenbank-Nr.	Beschreibung laut PDB
1A2	2HI4	Kristallstruktur von Human mikrosomalem P450 1A2, komplexiert mit α -Naphthoflavon
2B6	3IBD	Kristallstruktur einer genetischen Variation des Cytochroms P450 2B6, komplexiert mit dem Inhibitor 4-(4-Chlor-phenyl)imidazol
2B4	1PO5	Struktur des Cytochroms P450 2B4 (Säugetier)
3A4	1TQN	Kristallstruktur von Human mikrosomalem P450 3A4
3A4	1WOE	Kristallstruktur von Human mikrosomalem P450 3A4
3A4	2JOD	Kristallstruktur von Human P450 3A4, komplexiert mit Erythromycin

Hierfür wurden die Strukturen der Cytochrome und die α - und γ -HBCD-Stereoisomere unter Einsatz des Merck-Kraftfeldes (*Merck Molecular Force Field*) parametrisiert [294]. Unter Verwendung des FaDo-Verfahrens wurden insgesamt 20 Dockingansätze je HBCD-Stereoisomer und Cytochrom durchgeführt. Hierbei wurde in einer ersten Phase die Fragestellung der Anpassung der Liganden an die Zielstruktur modelliert und durch einen lokalen Optimierungsansatz (RPROP; [295]) gelöst. Anschließend wurden inter- und intramolekulare Energien der Liganden berechnet und in einem zweidimensionalen Raum minimiert.

In einem zweiten Schritt wurden nun die dem Lösungsmittel zugänglichen Bereiche (*solvent accessible surface area*, SASA) der Wasserstoffatome der jeweiligen α - und γ -HBCD-Stereoisomere unter Zugrundelegung des Contour-Buildup Algorithmus berechnet [296]. Dafür wurde zunächst für jedes Stereoisomer die wahrscheinlichste Geometrie mittels Hybrid-Monte-Carlo-Verfahren (HMC) unter Einsatz von je 500.000 Schritten und einer angenommenen theoretischen Temperatur von 1.500 K abgerufen [297]. Die hohen Temperaturen ermöglichen die Abdeckung sämtlicher Konformereräume der betreffenden Stereoisomere. Die Konvergenz wurde durch das Gelman und Rubin Kriterium ermittelt [298]. Im Anschluss daran wurden die Trajektorien für jedes Enantiomer mittels des Verfahrens der konjugierten Gradienten [299] minimiert und das globale Minimum der einzelnen Trajektorien bestimmt. Die Konformationen der globalen Minima wurden für die Berechnung des SASA der Wasserstoffatome des jeweiligen HBCD-Stereoisomers verwendet.

Zur Berechnung der Dipolmomente der Monohydroxy-HBCDs wurde ein HMC-Verfahren (120.000 Iterationen, $T = 1.500$ K) für jedes der sechs theoretisch wahrscheinlichen Monohydroxy-HBCD Strukturen (mögliche Metabolite von α - und γ -HBCD) durchgeführt. Die hierfür erstellten quantenchemischen Berechnungen erfolgten unter Einsatz des Programmes Gaussian-09 [300]. Für die Dichte-Funktional-Theorie-(DFT)-Rechnungen wurde das von Becke entwickelte 3-Parameter-Hybrid-Austauschfunktional in Kombination mit dem gradientkorrigierten Korrelationsfunktional von Lee, Yang und Parr (B3LYP) unter Verwendung der Standardbasissätze 6-31+G* benutzt [301-303]. Die Geometrien wurden optimiert und die Dipolmomente berechnet.

Ein weiterer Aspekt der mathematischen Berechnungen bezog sich auf die Simulation der Zugänglichkeit des HBCD-Wasserstoffs zum oxidativen Angriff im cytochromaktiven Zentrum. Hierfür erfolgte die Parametrisierung von CYP3A4 (PDB-Eintrag 1WOE) und den Enantiomeren von α - und γ -HBCD mit dem AMBER Kraftfeld-Verfahren [304]. Die Häm-Gruppe des CYP3A4 mit dem darin gebundenen Sauerstoff wurde unter Verwendung der von Park *et al.* entwickelten Parametern modelliert [305]. In der ersten Phase der Simulation wurden für jedes α - und γ -HBCD-Enantiomer die 20, zuvor mittels FaDo-

Verfahren identifizierten Geometrien als Strukturen für die Molekulardynamik (MD)-Simulation mittels GROMACS Paket verwendet [306]. Hierbei handelt es sich um eine Simulation der Bewegungen in Vielteilchensystemen durch Lösung der zeitabhängigen Hamiltonschen Bewegungsgleichungen, basierend auf den klassischen Newtonschen Gesetzen der Mechanik ($F = m \cdot a$). Die nach dem TIP3P Modell erstellten Wassermoleküle wurden als Lösungsmittel gewählt [307]. Das sogenannte TIP3P Wassermolekülmodell ist ein von Jorgensen entwickeltes einfaches kraftfeldbasiertes Modell zur Simulation einer Lösungsmittelbox. Hierbei werden drei elektrostatische Wechselwirkungsbereiche durch zwei partielle positive Ladungen an den Wasserstoffen und einer negativen Partialladung am Sauerstoff gebildet. Die Berechnung der Modelle basiert auf Kästen mit etwa 20.000 TIP3P Wassermolekülen und den gebundenen CYP3A4. Abschließend wurden von 20 Trajektorien jedes einzelnen HBCD-Enantiomers die energetisch und geometrisch günstigsten für weitere Berechnungen ausgewählt. In der zweiten Phase der Simulation wurden die entsprechenden HBCD-Enantiomere um die gewählten Trajektorien 60mal entlang den Ecken eines Ikosaeders gedreht. Für jede Rotation wurde eine Minimierung der Energien durchgeführt. Hierbei wurden nur kurze Equilibrierzeiten im Hinblick auf die relative Orientierung der Häm-Gruppe berücksichtigt. Danach wurde eine kurze MD-Simulation von 400 ps durchgeführt. Die Durchführung einer Zwei-Phasen-Simulation war hinsichtlich der Ermittlung einer Wahrscheinlichkeits-Rangfolge für die verschiedenen HBCD-Wasserstoffatome, die während der Hydroxylierung durch die Häm-Gruppe angegriffen werden, notwendig.

Abschließend wurden die Trajektorien hinsichtlich der Abstände der HBCD-Wasserstoffatome und dem entsprechend angreifenden Sauerstoffatom bezüglich der interagierenden Energien zwischen HBCD und CYP3A4 untersucht. Die Analysen wurden mit dem `g_dist` und `g_energy` Modulen des Software-Paketes GROMACS durchgeführt. Um eine mögliche Rangfolge der angegriffenen Wasserstoffatome zu ermitteln, wurde für jedes Wasserstoffatom der Makrozustand *M* definiert. Dieser wird von den Positionen des jeweiligen HBCD-Moleküls gebildet, bei denen der Abstand zwischen dem angreifenden Sauerstoff und dem entsprechenden Wasserstoff kleiner ist als eine definierte Distanz *d*. Da die Rangfolge der Makrozustände direkt mit der Rangfolge der Wahrscheinlichkeit der Wasserstoffatome, angegriffen zu werden, korreliert, wurde zu dessen Abschätzung somit die Größe der Makrozustände ermittelt. Ein weiterer Aspekt war die Untersuchung der energetischen Eigenschaften bzw. die potentielle Energie als Summe der Lennard Jones und Coulomb Energien zwischen den jeweiligen HBCD-Liganden und dem CYP3A4.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Enantiomerenspezifische HBCD-Analytik mittels HPLC-MS/MS

Zu Beginn der Arbeiten erfolgte die weiterführende Optimierung des HBCD-Analysenverfahrens bezüglich der immer stärker in den Fokus tretenden Blindwertproblematik sowie der Erweiterung der Bandbreite der zu untersuchenden Probenmaterialien um Möweneier und zusätzliche marine Spezies. In diesem Zusammenhang lag der Schwerpunkt auf den Prozeduren der vorbereitenden Arbeiten sowie der Probenaufarbeitung. Hierzu zählten bspw. das Ausheizen und anschließende vorsichtige Abkühlen der Glasgeräte unter Inertgas (Stickstoff) nach vorheriger Reinigung im Säure- und Basenbad sowie eine Optimierung der Elution im Zuge der säulenchromatographischen Aufreinigung (Florisil®-Säule).

Weiterhin wurde die HBCD-Messmethode auf ein HPLC-MS/MS-System, bestehend aus einer Agilent 1200er HPLC und einem API 4000 QTRAP® Hybrid Triple Quadrupole/Linear Ion Trap Massenspektrometer angepasst und bezüglich der chromatographischen Trennung der Enantiomere weiter optimiert. Für diese Optimierung wurden verschiedene stationäre Phasen mit kleineren Partikelgrößen ($C_{18} < 3 \mu\text{m}$) auf ihre Eignung hin überprüft und neben der Etablierung eines Lösungsmittelgradienten auch eine Variation der Säulenofentemperatur durchgeführt. Im Ergebnis dieser Arbeiten erfolgte die chromatographische Trennung der HBCD-Enantiomere bei 15 °C mittels einer Säulenkombination aus einer C_{18} - (Partikelgröße $1,8 \mu\text{m}$) sowie einer β -PM-Cyclodextrin-Phase ($5 \mu\text{m}$) unter Anwendung eines schwachen Lösungsmittelgradienten (Kapitel 3.10). In Abbildung 25 sind die aufgenommenen Totalionenchromatogramme (TICs) eines äquimolaren Gemisches (1 : 1 : 1) von α -, β - und γ -HBCD unter Verwendung des von Köppen *et al.* eingesetzten HPLC-MS/MS-Systems API 4000™ (A) und der API 4000 QTRAP® (B) gegenübergestellt. Es ist zu erkennen, dass neben einer Verkürzung der Analysenzeit auch eine deutlich bessere Auftrennung der einzelnen HBCD-Enantiomere erzielt werden konnte.

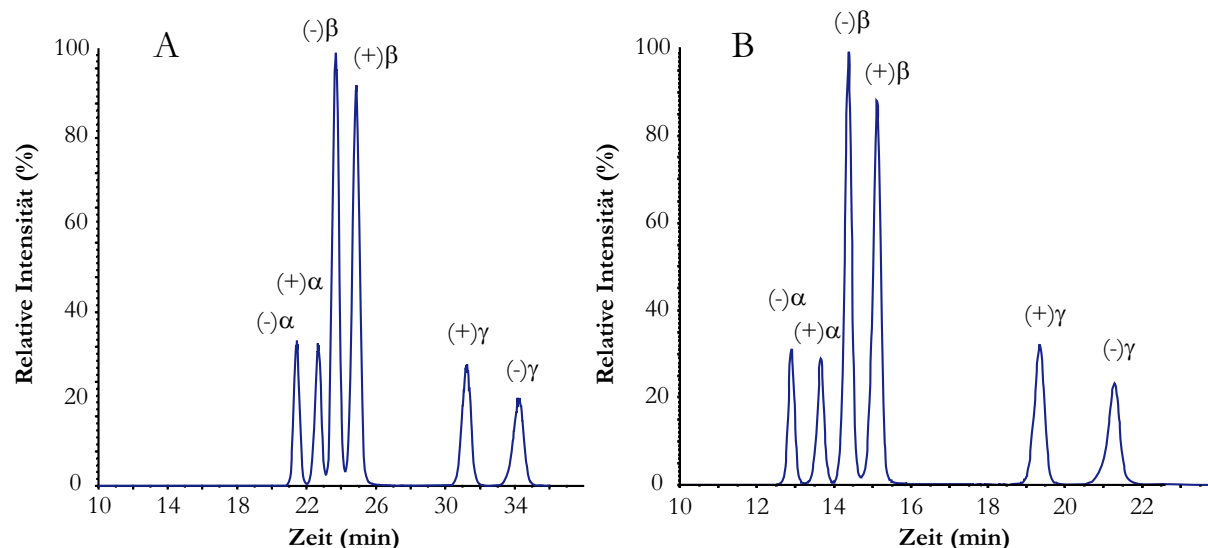


Abbildung 25: TIC (m/z 640,6 \rightarrow 79,0) einer Standardlösung von α -, β - und γ -HBCD im Verhältnis 1 : 1 : 1 nach Köppen *et al.* (API 4000™ [14,145]; **A**) sowie mittels optimierter Messmethode (API 4000 QTRAP®; **B**).

Beim Vergleich der für beide Messmethoden ermittelten, die Güte der chromatographischen Trennung beschreibenden Faktoren (Tabelle 21) ist festzustellen, dass sich diese unter Berücksichtigung der jeweils zugrunde liegenden unterschiedlichen Gehaltsniveaus, vor allem bezüglich der chromatographischen Auflösung R , deutlich unterscheiden. Im Gegensatz dazu stimmen die jeweiligen Werte der Kapazitäts- und Trennungsfaktoren weitestgehend überein. Da für die Ermittlung Messlösungen verschieden hoher Gehaltsniveaus verwendet wurden, wird deutlich, dass die Eignung der optimierten Messmethode zum enantiomerenspezifischen Nachweis von HBCD über einen Gehaltsbereich von 0,026-132 ng g^{-1} (Arbeitsbereich) als gegeben angesehen werden kann. Die verbesserte Auflösung der optimierten Messmethode ist

vornehmlich auf die Etablierung eines Lösungsmittelgradienten sowie der Reduzierung der Partikelgrößen der eingesetzten C₁₈-Phase zurückzuführen.

Tabelle 21: Kapazitäts- (k') und Trennungsfaktoren (α) sowie Auflösungen (R_s) für die chromatographische Trennung der HBCD-Enantiomere unter Verwendung von HPLC-Säulenkopplungen an dem API 4000™ und der API 4000 QTRAP®.

HPLC-MS/MS (API 4000™ [14])						
HBCD-Enantiomer	Gehalte pro Enantiomer (ng g ⁻¹): $\alpha = 2,30, \beta = 2,19, \gamma = 2,23$			Gehalte pro Enantiomer (µg g ⁻¹): $\alpha = 2,21, \beta = 2,41, \gamma = 1,94$		
	k'^a	α^b	R_s^c	k'^a	α^b	R_s^c
(-)- α -HBCD	1,87			2,02		
		1,09	2,32		1,08	1,91
(+)- α -HBCD	2,03			2,19		
		1,07	1,70		1,07	1,59
(-)- β -HBCD	2,17			2,33		
		1,07	1,63		1,07	1,71
(+)- β -HBCD	2,31			2,50		
		1,35	7,67		1,36	6,84
(+)- γ -HBCD	3,13			3,39		
		1,13	3,19		1,12	2,57
(-)- γ -HBCD	3,53			3,79		
HPLC-MS/MS (API 4000 QTRAP®)						
HBCD-Enantiomer	Gehalte pro Enantiomer (pg g ⁻¹): α, β und $\gamma = 13,0$			Gehalte pro Enantiomer (ng g ⁻¹): α, β und $\gamma = 132,0$		
	k'^a	α^b	R_s^c	k'^a	α^b	R_s^c
(-)- α -HBCD	1,92			1,92		
		1,09	4,42		1,09	4,29
(+)- α -HBCD	2,09			2,10		
		1,08	4,19		1,08	3,97
(-)- β -HBCD	2,26			2,26		
		1,07	3,72		1,08	4,14
(+)- β -HBCD	2,43			2,43		
		1,39	17,5		1,39	23,2
(+)- γ -HBCD	3,38			3,37		
		1,13	6,51		1,13	10,9
(-)- γ -HBCD	3,81			3,82		

^a $k' = (t_R - t_0)/t_0$ mit t_R als Retentionszeit für die HBCD-Enantiomere und t_0 als Totzeit der Säule

^b $\alpha = k'_2/k'_1$, wobei 1 und 2 die Elutionsreihenfolge der Enantiomere repräsentieren

^c $R_s = (t_{R1} - t_{R2})/0,5(\omega_1 + \omega_2)$ mit ω als Basisbreite des jeweiligen Peaks

Bei der Betrachtung der Signalintensitäten des in Abbildung 25 dargestellten Totalionenchromatogrammes ist deutlich ersichtlich, dass diese sich aufgrund diastereomerenspezifischer Responsefaktoren (RF) deutlich voneinander unterscheiden. Das auf α -HBCD bezogene Verhältnis der RF-Werte bei einem Gehalt von ca. 132 ng g⁻¹ (Tabelle 22) entspricht ca. 1,00 : 0,33 : 0,64 ($\alpha : \beta : \gamma$; $n = 10$) und ist somit vergleichbar zu den auf einem Gehaltsniveau von ca. 17 ng g⁻¹ ermittelten Responsefaktoren [14].

Da es sich bei den verwendeten MS-Systemen um mit einer Turbo-Ion-Spray-Ionenquelle ausgestattete *triple-stage-quadrupol*-Massenspektrometer handelt, die im negativen Ionisierungsmodus mit den selben MS-Parametern betrieben wurden, sind die aufgenommenen Full-Scan Massenspektren von HBCD (Abbildung 26) identisch. Charakteristisch für das ESI-Massenspektrum von HBCD sind neben dem Quasimolekülion (deprotoniertes Molekülion $[M-H]^-$) mehrere Addukt-Ionen mit Eluent- bzw. Modifier-Molekülen wie das Addukt mit zwei Molekülen Wasser (m/z 676,7) bzw. einem Molekül Essigsäure

(m/z 700,6). Darüber hinaus sind Signale zu erkennen, die sowohl aufgrund ihrer Massendifferenz zum Quasimolekülion als auch wegen ihres charakteristischen Isotopenmusters auf die Anwesenheit von einem weiteren Brom-Atom schließen lassen.

Tabelle 22: Gemittelte Responsefaktoren ($n = 10$) der HBCD-Enantiomere (Gehaltsniveau: 132 ng g^{-1}).

HBCD-Enantiomer	(-)- α	(+)- α	(-)- β	(+)- β	(+)- γ	(-)- γ
RF ^a	3,12 ^b	3,05 ^b	1,02 ^b	1,01 ^b	1,81 ^b	2,15 ^b

^a RF = Gehalt / Peakfläche; ^b 10^{-5}

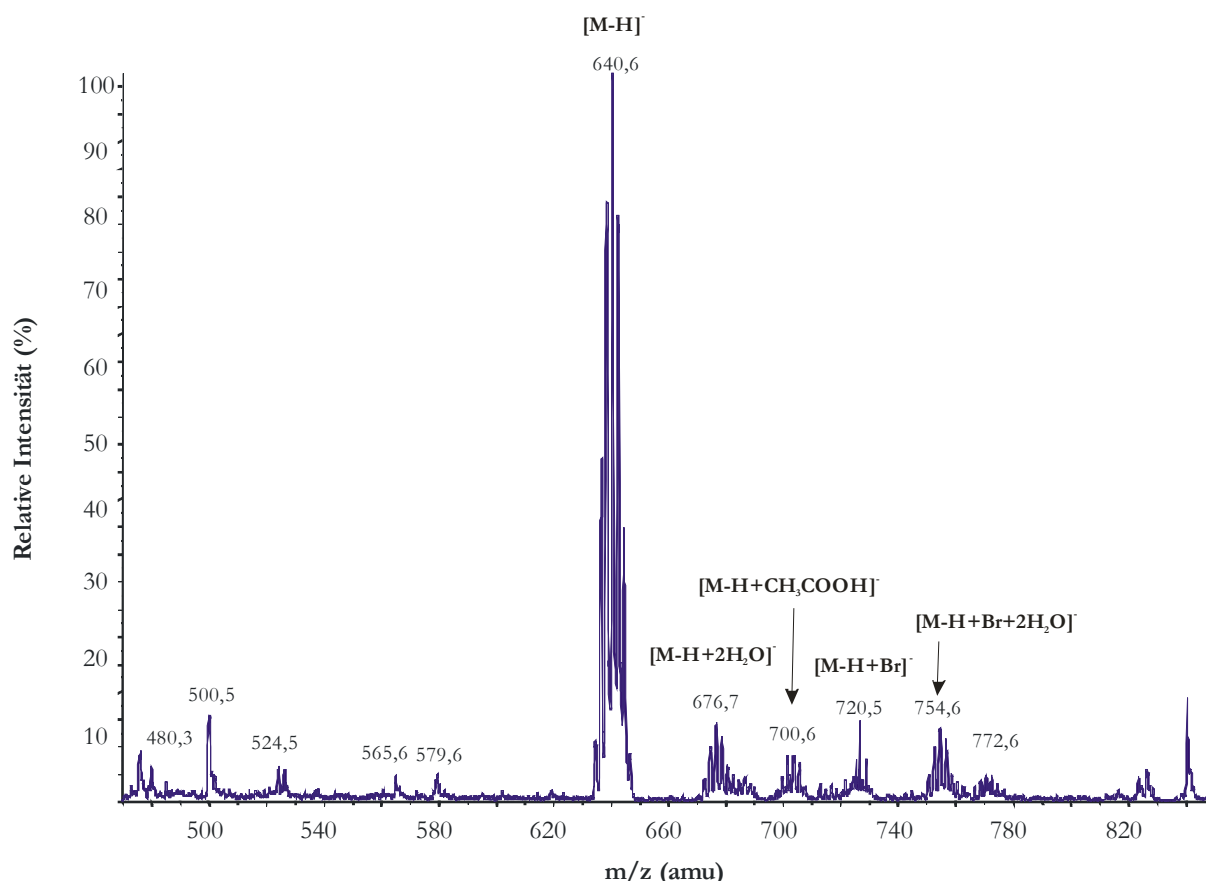


Abbildung 26: Ausschnitt aus dem ESI-Full-Scan Massenspektrum von HBCD (m/z 480-840).

4.2 Validierung des Analysenverfahrens

Die Validierung des Analysenverfahrens zur Extraktion und enantiomerenspezifischen Bestimmung von HBCD in Biotaprobenn erfolgte u. a. in Anlehnung an die Europäische Norm EN ISO/IEC 17025: 2005, in der allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien festgelegt wurden [114]. Hiernach beschreibt die Validierung „die Bestätigung durch Untersuchung und Bereitstellung eines Nachweises, dass die besonderen Anforderungen für einen speziellen beabsichtigten Gebrauch erfüllt werden“. Für die Validierung des vorliegenden quantitativen Analysenverfahrens wurden folgende Verfahrenskennzahlen betrachtet: Selektivität, Linearität, Arbeitsbereich, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze, Richtigkeit, Präzision sowie Messunsicherheit.

4.2.1 Selektivität

Selektivität ist ein Leistungsmerkmal eines Analysenverfahrens, das nur schwer zu quantifizieren ist. Es gilt hierbei zu überprüfen, ob ein Signal, welches über das Messsystem ermittelt wurde, tatsächlich auf den jeweiligen Analyten zurückzuführen ist und nicht zufällig durch eine Störung produziert oder durch die Anwesenheit von chemisch bzw. physikalisch ähnlichen Verbindungen hervorgerufen wird [130]. Die Selektivität beschreibt somit die Fähigkeit, den bzw. die betreffenden Analyten ohne matrixbedingte

Störungen zu untersuchen. Zu ihrer Ermittlung muss die Abwesenheit relevanter Störungen bewiesen und somit die Selektivität des Analysenverfahrens anhand von Daten (aktiv) belegt werden. Da es jedoch nicht realisierbar ist, alle potentiell möglichen Störkomponenten zu erfassen und zu überprüfen, sollte versucht werden, die wesentlichsten Störkomponenten zu identifizieren. Der Nachweis der Selektivität kann auf verschiedene Weise erbracht werden [308]:

- Ermittlung des Bias/der Richtigkeit des Analysenverfahrens (Selektivität ist Voraussetzung für Richtigkeit),
- Analyse von voneinander unabhängigen repräsentativen Leerproben,
- Vergleich von Kalibrierkurven,
- Vergleich von Messergebnissen mit und ohne Matrix bzw. Zusatz von Störkomponenten,
- Vergleich mit Messergebnissen unabhängiger Analysenverfahren/-techniken.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Selektivität anhand der Richtigkeit des Analysenverfahrens bestätigt (Kapitel 4.2.5).

4.2.2 Linearität

Zur Überprüfung der Linearität der externen Kalibrierung des HPLC-MS/MS-Systems wurden die erforderlichen Standard-Lösungen durch gravimetrisch kontrollierte Verdünnungen unterschiedlicher Volumina einer Stammlösung im Gehaltsbereich zwischen 0,006 und 202 ng g⁻¹ (15 Kalibrierniveaus) erstellt (Tabelle B1). Der Gehalt des internen Standards (¹³C₁₂-HBCD) betrug jeweils ca. 22 ng g⁻¹. Zur Kompensation von Messschwankungen wurden pro Kalibrierniveau drei Wiederholbestimmungen durchgeführt sowie zusätzlich Lösungsmittelblindwerte bestimmt.

Infolge des weiten Gehaltsbereiches der verwendeten Kalibrierung erfolgte die Anpassung an eine Geradengleichung mit einer 1/x-gewichteten linearen Regression. Für den Test auf Linearität wurden die Mittelwerte der Wiederholbestimmungen pro Kalibrierniveau (Abbildung 27 für (-)- α -HBCD) zu Beginn auf Normalverteilung (Methode nach David), Trends (Trend-Test nach Neumann) und Ausreißer (Grubbs-Test) hin untersucht (P = 99 %).

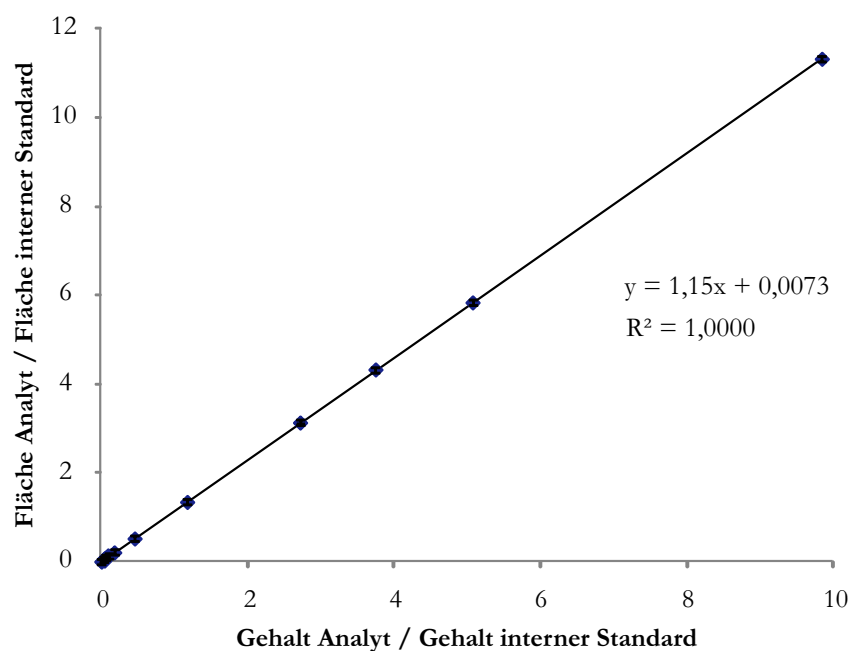


Abbildung 27: Kalibriergerade für (-)- α -HBCD im Bereich zwischen 0,006 und 202,35 ng g⁻¹ (inkl. Angabe der Standardabweichung s).

Hierbei konnten die Normalverteilung der Daten sowie Abwesenheit von Trends und Ausreißern bestätigt werden. Anschließend erfolgte die Prüfung der Linearität mittels Anpassungstest nach Mandel [309], wobei im Ergebnis das lineare Regressionsmodell im gewählten Gehaltsbereich bestätigt werden konnte. In Tabelle 23 sind die mittels Regressionsanalyse ermittelten wesentlichen Kenndaten der Kalibrierfunktionen für die einzelnen HBCD-Enantiomere zusammengestellt.

Tabelle 23: Wesentliche Kenndaten der linearen Regressionsanalyse (Anpassungstest nach Mandel [309], $P = 99\%$) für die HBCD-Isomere.

Kenndaten	(-)- α	(+)- α	(-)- β	(+)- β	(+)- γ	(-)- γ
Bestimmtheitsmaß R^2	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
Summe der Abweichungsquadrate	80,48	81,29	79,09	78,23	82,73	83,70
Steigung a	1,15	1,16	1,18	1,17	1,22	1,24
Achsenabschnitt b	0,0073	0,0079	0,0067	0,0067	0,0075	0,0054
Reststandardabweichung (ng g ⁻¹)	0,0013	0,0012	0,0009	0,0016	0,0015	0,0019
Verfahrensstandardabweichung (absolutes Präzisionsmaß) (ng g ⁻¹)	0,0015	0,0014	0,0011	0,0018	0,0019	0,0024

4.2.3 Arbeitsbereich

Der Arbeitsbereich ist der Gehaltsbereich des Analyten in der Probe, für den sich das Analysenverfahren bei Betrachtung von Präzision, Richtigkeit und Linearität als geeignet erweist [310]. Zur Ermittlung dieser Validierungskenngröße erfolgte analog zur Vorgehensweise des Linearitätstests, die Analyse von 12 Kalibrierpunkten im Gehaltsbereich zwischen 0,026 und 132,07 ng g⁻¹ in Dreifachbestimmungen (Tabelle B2). Die Auswertung der Rohdaten erfolgte analog der in Kapitel 4.2.2 beschriebenen Vorgehensweise. Die so ermittelten Parameter der Kalibrierfunktion sind in Tabelle 24 aufgelistet und die Kalibriergerade ist für (-)- α -HBCD exemplarisch in Abbildung 28 dargestellt. Da innerhalb des Arbeitsbereiches Varianzhomogenität (Homoskedastizität) angestrebt wird, wurden zu deren Überprüfung der niedrigste sowie der höchste Kalibrierpunkt 10-fach gemessen und die resultierenden Daten einem Varianzhomogenitätstest unterzogen. Im Vorfeld der Ermittlung wurden die betreffenden Daten auf Normalverteilung (Methode nach David), Trends (Trend-Test nach Neumann) und auf das Vorliegen von Ausreißern (Grubbs-Test) überprüft.

Tabelle 24: Ermittelte Kenndaten der Regressionsanalyse für die HBCD-Enantiomere ($P = 99\%$).

Kenndaten	(-)- α	(+)- α	(-)- β	(+)- β	(+)- γ	(-)- γ
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9998	0,9999	0,9999	0,9998	0,9997	0,9998
Summe der Abweichungsquadrate	61,01	59,74	59,66	59,75	62,21	62,97
Steigung a	1,13	1,12	1,16	1,16	1,20	1,22
Achsenabschnitt b	0,035	0,026	0,0083	0,0091	0,012	0,012
Reststandardabweichung (ng g ⁻¹)	0,0048	0,0027	0,0012	0,0016	0,0022	0,0008
Verfahrensstandardabweichung (ng g ⁻¹)	0,0055	0,0030	0,0014	0,0018	0,0027	0,0010

Die Varianzhomogenität des Arbeitsbereiches wurde unter Zuhilfenahme des F-Tests nach Fisher ermittelt. Da bei diesem vorausgesetzt wird, dass die jeweiligen betrachteten Stichproben der gleichen Grundgesamtheit angehören und die Absolutwerte der jeweiligen Streuungen zur Prüfung heranzuziehen sind, ist dieser nur sehr eingeschränkt für die Prüfung der Varianzhomogenität einer Weitbereichskalibrierung über mehrere Dekaden geeignet. Aus diesem Grund wurde für die vorliegenden Stichproben das Modell des Vergleiches der relativen Streuungen angewandt. Hierbei wurden die vorliegenden Einzelwerte durch den jeweiligen Stichprobenmittelwert dividiert, die so erhaltenen Datensätze auf Zugehörigkeit zur selben Grundgesamtheit überprüft (Chi²-Test nach Bartlett, ANOVA) und

anschließend ein F-Test durchgeführt. Im Ergebnis konnte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 1\%$ (Wahrscheinlichkeit $P = 99\%$) kein signifikanter Unterschied zwischen den betreffenden Varianzen festgestellt werden, sodass der gewählte Arbeitsbereich für die Durchführung von Messungen bestätigt wurde.

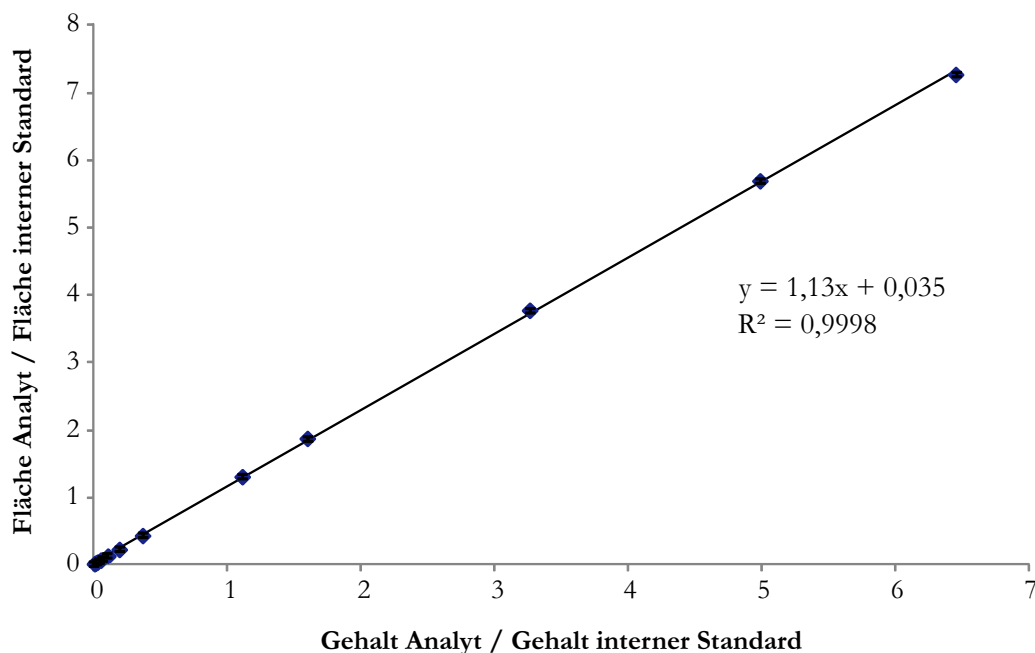


Abbildung 28: Kalibriergerade des Arbeitsbereiches für (-)- α -HBCD im Bereich zwischen 0,026 und 132,07 ng g⁻¹.

4.2.4 Laborinterne Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze

Die Ermittlung der Kenngrößen für die einzelnen HBCD-Isomere erfolgte unter Anwendung der Kalibriergeradenmethode (indirekte Methode) gemäß DIN 32645: 2008-11 [311] und DIN ISO 11843-2: 2006-06 [312] anhand reiner Standardlösungen unter Wiederholbedingungen. Voraussetzung für diese Vorgehensweise sind neben dem Vorliegen voneinander unabhängiger, normalverteilter Messwerte und exakt messbarer Blindwerte auch die Linearität der Kalibrierfunktion ($n \geq 6$) sowie Homoskedastizität mindestens im Bereich zwischen Blindwert und der Bestimmungsgrenze. Darüber hinaus darf die zur Ermittlung der Kenngrößen verwendete Kalibriergerade maximal eine Dekade, d. h. den Bereich zwischen Blindwert ($x = „0“$) bzw. zuvor näherungsweise ermittelter Nachweisgrenze und dem zehnfachen Gehalt der zu erwartenden Nachweisgrenze, überstreichen.

Gemäß diesen Vorgaben wurden die Kenngrößen unter Berücksichtigung der Massenanteil- sowie Flächenverhältnisse von nativem und internem Standard durch dreifache Injektion von neun voneinander unabhängig hergestellten Kalibrierlösungen (inklusive internem Standard) im Gehaltsbereich zwischen 2,05 und 20,5 pg g⁻¹ ermittelt. Im Vorfeld der Kenngrößenbestimmung wurden die erhaltenen Kalibrierdaten auf Ausreißer und Linearität hin überprüft. In Tabelle 25 sind ausgewählte Kenndaten der durch die Regressionsanalyse erhaltenen Kalibrierfunktionen für die einzelnen HBCD-Enantiomere zusammengestellt, für die exemplarisch in Abbildung 29 die (-)- α -HBCD-Kalibriergerade dargestellt ist.

Tabelle 25: Ausgewählte Kenndaten der für die Berechnung von Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen gemäß DIN 32645 [311] und DIN ISO 11843-2 [312] zugrundeliegenden Kalibrierfunktionen und der resultierenden enantiomerenspezifischen Kenngrößen ($P = 99\%$; in pg g⁻¹ bzw. fg).

Kenndaten	(-)- α	(+)- α	(-)- β	(+)- β	(+)- γ	(-)- γ
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9999	0,9999	0,9999	0,9998	0,9999	0,9998
Summe der Abweichungsquadrate	274,2	274,2	273,6	273,6	273,3	273,3
Steigung a	0,080	0,110	0,034	0,101	0,214	0,123
Achsenabschnitt b	9,59	8,71	7,72	6,29	8,01	10,78

Kennndaten	(-)- α	(+)- α	(-)- β	(+)- β	(+)- γ	(-)- γ
Reststandardabweichung (pg g ⁻¹)	0,006	0,012	0,004	0,012	0,024	0,017
Verfahrensstandardabweichung (pg g ⁻¹)	0,069	0,111	0,109	0,123	0,112	0,135
Nachweisgrenze (pg g ⁻¹)	0,131	0,210	0,207	0,232	0,212	0,255
(fg)	(1,04)	(1,66)	(1,64)	(1,83)	(1,68)	(2,02)
Erfassungsgrenze (pg g ⁻¹)	0,262	0,420	0,413	0,464	0,425	0,510
(fg)	(2,07)	(3,32)	(3,26)	(3,67)	(3,36)	(4,03)
Bestimmungsgrenze (pg g ⁻¹)	0,484	0,766	0,755	0,845	0,775	0,925
(fg)	(3,82)	(6,05)	(5,97)	(6,68)	(6,13)	(7,31)

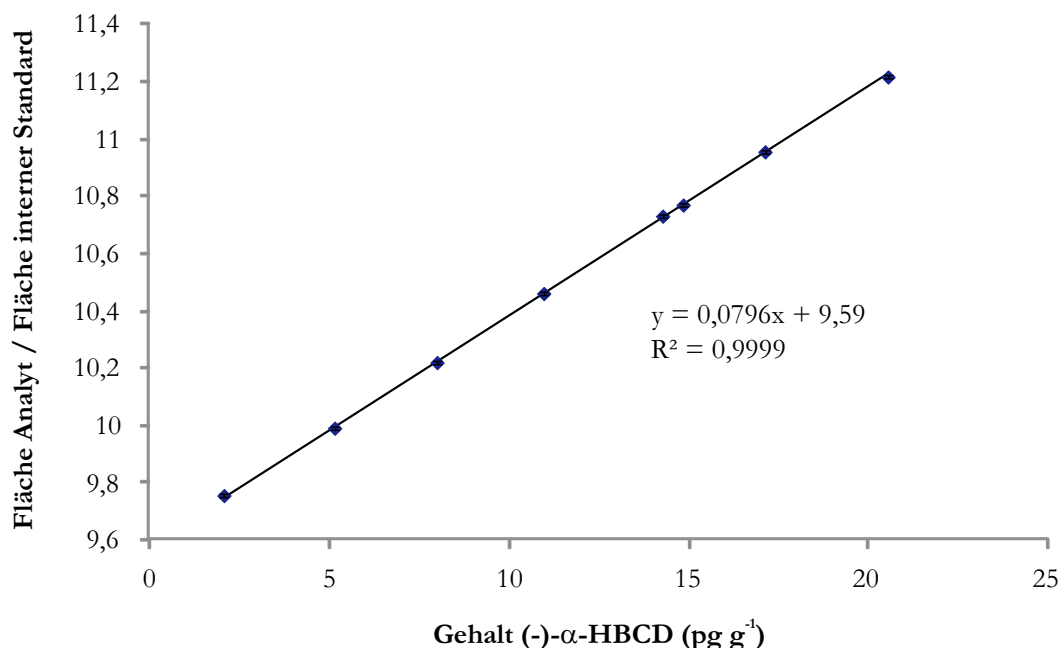


Abbildung 29: Kalibriergerade im Gehaltsbereich zwischen 2,05 und 20,5 pg g⁻¹ für (-)- α -HBCD zur Ermittlung von Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze.

4.2.5 Richtigkeit

Zur Erfassung der Richtigkeit eines quantitativen Analysenverfahrens ist die Ermittlung der absoluten oder relativen systematischen Abweichungskomponenten (Bias) anhand allgemein anerkannter Referenzwerte von wesentlicher Bedeutung [308]. Die Ermittlung des Bias kann hierbei auf unterschiedliche Art und Weise unter Verwendung von unabhängigen, auf die spezifischen Anforderungen angepassten Verfahrensansätze in Verbindung mit Mehrfachanalysen ($n \geq 6$) durchgeführt werden. Im Idealfall werden Vergleichsanalysen repräsentativer (zertifizierter) Matrix-Referenzmaterialien (ZRM) oder (zertifizierter) Referenzstandards durchgeführt, da dieser Verfahrensansatz den größtmöglichen Grad an Rückführbarkeit auf die SI-Einheit für die Ermittlung des Bias beinhaltet (Abbildung 30). Wenn weder geeignete ZRMs noch Referenzverfahren verfügbar sind, wird häufig auf die Daten vorhandener Ringversuchsmaterialien zurückgegriffen bzw. eine Teilnahme an entsprechenden Ringversuchen/ Eignungstests angestrebt. Da jedoch gerade im Falle von noch nicht mit Grenzwerten (gesetzlich vorgeschriebene Höchstmengen) belegten Analyten die Verfügbarkeit von auf die jeweilige Analyt/Matrix-Kombination abgestimmten Ringversuchsmaterialien sowie die Anzahl der pro Jahr durchgeführten Ringversuche/ Eignungstests eher begrenzt ist, wird häufig der Verfahrensansatz der Aufstockung eines Matrixmaterials mit einer bekannten Menge des Analyten (Untersuchung dotierter Leerwertmatrix, Standardadditionsverfahren) gewählt.

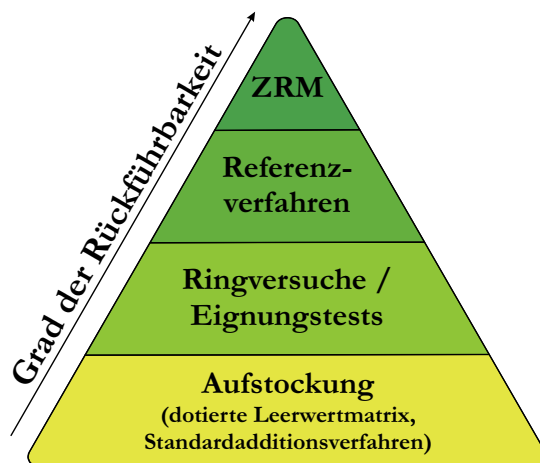


Abbildung 30: Schematische Darstellung der Rückführbarkeits-Hierarchie bezüglich der Ermittlung der Richtigkeit eines quantitativen Analysenverfahrens.

Im vorliegenden Fall waren weder (zertifizierte) Matrix-Referenzmaterialien erhältlich, noch die Möglichkeit gegeben, mit Hilfe eines validierten Zweitverfahrens die Richtigkeit zu ermitteln. Darüber hinaus waren zum Zeitpunkt der Verfahrenvalidierung keine Ringversuchsmaterialien verfügbar, noch wurden Ringversuche durchgeführt. Daher erfolgte die Bestimmung der Richtigkeit anhand der Dotierung einer Hühnereiprobe mit Hilfe kommerziell erhältlicher Standards (Kapitel 3.7). Als Maß für die Richtigkeit wurde die prozentuale Wiederfindung (Wert und Streuung), d. h. die Differenz zwischen dem gemessenen Gehalt in der dotierten und der undotierten Probe im Verhältnis zu der den Proben jeweils zugesetzten Menge an Analyt berechnet. Grundsätzlich erfolgt die Berechnung entsprechend der nachfolgenden allgemeinen Gleichung 6.

$$W = \frac{\bar{x}}{x_r} \cdot 100 \% \quad (6)$$

W : prozentuale Wiederfindung

\bar{x} : Mittelwert der ermittelten Gehalte

x_r : richtiger Wert („wahrer“ Wert; dotierter Wert)

Zur Bestimmung der prozentualen Wiederfindung für die verschiedenen HBCD-Isomere wurde das hausinterne Referenzmaterial gravimetrisch kontrolliert mit $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD-Standard versetzt, die Probe nach 24-stündiger Alterung der Probenaufarbeitung unterzogen und mittels HPLC-MS/MS analysiert (Tabelle 26).

Tabelle 26: Gegenüberstellung der enantiomerenspezifischen HBCD-Gehalte (ng g^{-1}) des (dotierten) hausinternen Referenzmaterials und der unter Anwendung der IVA-HPLC-MS/MS erhaltenen Analysenergebnisse ($n = 6$, $m = 3$) jeweils mit Angabe der Standardabweichung s sowie Angabe der resultierenden prozentualen Wiederfindung.

HBCD-Isomer	Sollwert		Istwert		prozentuale Wiederfindung	
	Gehalt	s	Gehalt	s	Gehalt	s
(-)- α	11,18	0,38	11,40	0,36	101,93	0,50
(+)- α	11,18	0,38	11,21	0,36	100,26	1,07
(-)- β	11,18	0,38	11,21	0,43	100,32	0,96
(+)- β	11,18	0,38	11,30	0,40	101,08	1,37
(+)- γ	11,16	0,38	11,17	0,41	100,03	0,88
(-)- γ	11,16	0,38	11,28	0,53	101,01	1,56

4.2.6 Präzision

Die Präzision beschreibt das Ausmaß der Übereinstimmung unabhängiger Analysenergebnisse, die unter festgelegten Bedingungen gewonnen wurden [130]. Sie wird als Standardabweichung oder Variations-

koeffizient V_k (relative Standardabweichung) einer Datenreihe angegeben und kann durch eine wiederholte Analyse von Proben (nach Möglichkeit (zertifizierte) Matrix-Referenzmaterialien) abgeschätzt werden. In der Praxis wird als Maß für die Präzision die relative Standardabweichung der entsprechenden Analysenergebnisse verwendet, wobei zwischen Wiederhol- und Vergleichspräzision sowie der Präzision unter Zwischenbedingungen unterschieden wird [313]. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden für das HBCD-Analysenverfahren die Wiederholpräzision und die Präzision unter Zwischenbedingungen ermittelt.

Zur Bestimmung der Wiederholpräzision wurde eine Serie von Ermittlungsergebnissen, die bereits im Rahmen der Richtigkeits-Untersuchungen verwendet wurde (Kapitel 4.2.5), herangezogen. Die zugrundeliegenden Daten basieren auf einer Aufarbeitungsserie von sechs unabhängigen Proben ($n = 6$) des hausinternen Referenzmaterials, wobei jede Aufarbeitung dreimal gemessen wurde ($m = 3$). In Tabelle 27 sind die für die einzelnen HBCD-Enantiomere resultierenden Daten, berechnet nach DIN ISO 5725-2: 2002-12 [313], aufgelistet.

Die Präzision unter Zwischenbedingungen wurde ebenfalls unter Verwendung des hausinternen Referenzmaterials durch drei verschiedene Bearbeiter in jeweils zwei Aufarbeitungsserien à sechs Proben zu verschiedenen Tagen ermittelt (Variation von zwei Einflussgrößen). Die erhaltenen Untersuchungsergebnisse wurden zunächst je Serie auf Normalverteilung (Methode nach David), Trend (Trend-Test nach Neumann) und Ausreißer (Grubbs-Test) untersucht ($P = 99\%$). Für alle Stichproben konnte die Normalverteilung sowie die Abwesenheit von Ausreißern und Trends festgestellt werden. Im Anschluss wurden unter Anwendung des χ^2 -Tests nach Bartlett die Gleichheit der Varianzen der Stichproben bei $\alpha = 1\%$ überprüft. Erst nach nachgewiesener Varianzhomogenität sowie erfolgter einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA; $P = 99\%$) der Stichproben kann angenommen werden, dass alle Daten aus der gleichen Grundgesamtheit stammen und diese demnach zur weiteren Berechnung der Präzision unter Zwischenbedingungen zusammengefasst werden dürfen (Tabelle 27). Die Berechnung des entsprechenden Variationskoeffizienten (V_t) erfolgte gemäß der nachfolgenden Gleichung 7.

$$V_t = \frac{\sqrt{s_i^2 + s_z^2}}{\bar{X}} \cdot 100\% \quad (7)$$

s_z Streuung zwischen den Tagen; Wiederholvarianz
 \bar{X} Mittelwert aller Ermittlungsergebnisse
 s_i^2 Wiederholvarianz

Tabelle 27: Enantiomerenspezifische Kenndaten (%) der Wiederholpräzision und der Präzision unter Zwischenbedingungen (V_t) gemäß DIN ISO 5725 [313].

Kenndaten	(-)- α	(+)- α	(-)- β	(+)- β	(+)- γ	(-)- γ
Wiederholpräzision	0,49	1,46	2,01	2,02	2,23	2,44
V_t	0,51	1,14	2,53	2,24	2,37	2,51

4.2.7 Messunsicherheit

Die Messunsicherheit stellt einen wichtigen Parameter eines Analysenverfahrens dar [130]. „Ohne eine solche Angabe lassen sich Messergebnisse weder miteinander noch mit Referenzwerten vergleichen, die in einer Spezifikation oder Norm gegeben sind.“ [314]. Es handelt sich hierbei um einen dem Analysenergebnis zugeordneten Parameter, der einen Wertebereich um das Analysenergebnis kennzeichnet, innerhalb dessen sich der „wahre“ Gehalt mit einer definierten Wahrscheinlichkeit (Vertrauensintervall, im Allgemeinen 95 %) befindet:

Analysenergebnis (y) bzw. Analysenergebnis-Mittelwert (\bar{y}) \pm erweiterte Messunsicherheit (U).

Die DIN ISO/IEC 17025 stellt konkrete Anforderungen an die Ermittlung bzw. Schätzung der Messunsicherheit. Hiernach werden zur Ermittlung alle Unsicherheitskomponenten, die für die betreffende Fragestellung von Bedeutung sind, in Betracht gezogen. Um die Messunsicherheit der ermittelten Werte

für die verschiedenen HBCD-Isomere zu bestimmen, wurde der *bottom up*-Ansatz verwendet, nach dem die kombinierte Messunsicherheit u_c entsprechend dem Fehlerfortpflanzungsgesetz berechnet wird (Abbildung 31; [14]).

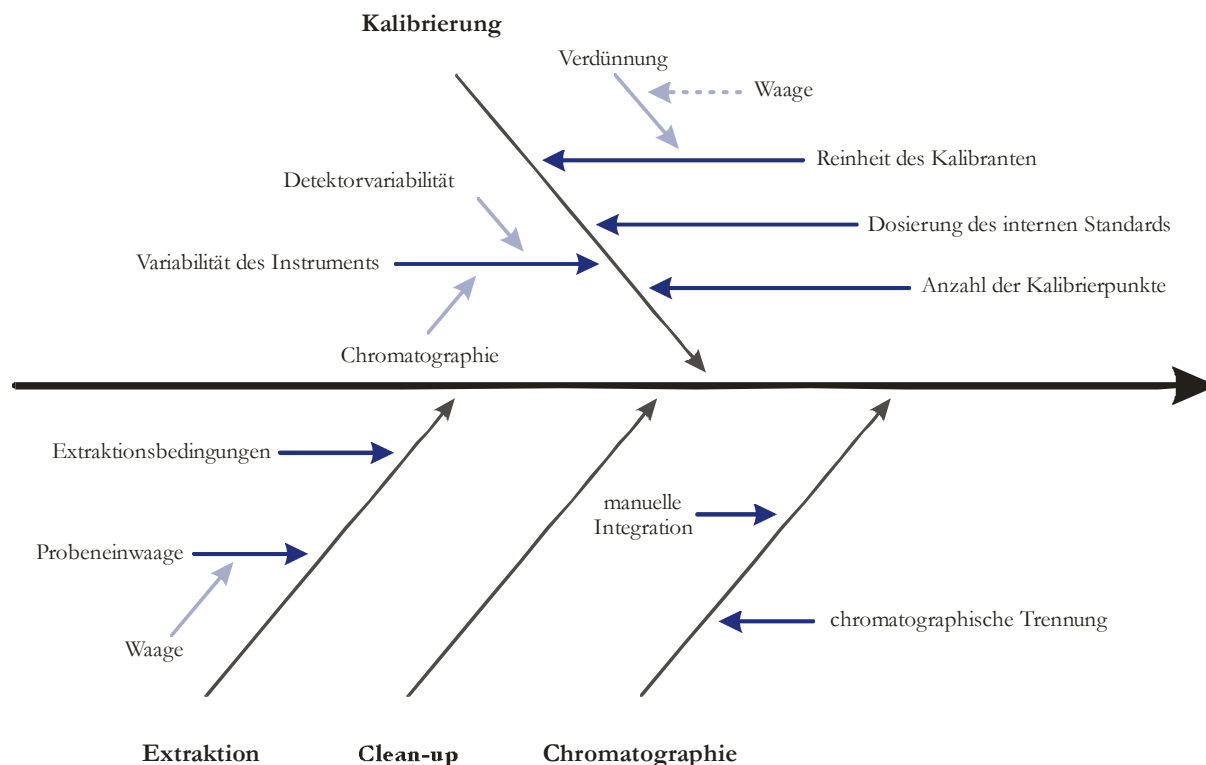


Abbildung 31: Ursache-Wirkungsdiagramm für das HBCD-Analysenverfahren in Biotapen mit den einzelnen Messunsicherheitskomponenten nach [14].

Grundlage für diesen Ansatz bildet die Identifizierung und Quantifizierung der einzelnen Einflussgrößen und deren Zusammenwirken. Die kombinierte Messunsicherheit errechnet sich aus der positiven Quadratwurzel der Summe aller Unsicherheitskomponenten (Varianzen), welche im Rahmen des Analyseverfahrens Einfluss auf das Ergebnis nehmen. Da u_c die geschätzte Messunsicherheit des Messergebnisses auf dem Vertrauensniveau der Standardabweichung (68,3 %) darstellt, wird durch Multiplikation mit einem Erweiterungsfaktor k die resultierende Überdeckungswahrscheinlichkeit erhöht. Im Falle eines Erweiterungsfaktors von $k = 2$ entspricht diese ungefähr 95 %, sodass mit einer Wahrscheinlichkeit von $\sim 95 \%$ der „wahre Wert“ im Intervall $y - U$ bis $y + U$ zu erwarten ist. Bei der Wahl des Erweiterungsfaktors muss neben dem erforderlichen Vertrauensniveau und der Kenntnis der zugrundeliegenden Verteilung auch die Anzahl der unabhängigen Probenaufarbeitungen berücksichtigt werden. Gemäß dem EURACHEM / CITAC Leitfaden [315] wird bei weniger als sechs Freiheitsgraden empfohlen „dass k dem zweiseitigen Wert des Student's t gleichgesetzt wird“ (Gleichung 8).

$$k = k(P) = t_P(v) \quad (8)$$

t_P : Zweiseitiger Wert der Student t-Verteilung bei einem gegebenen Signifikanzniveau P

v : Anzahl der Freiheitsgrade

Die erweiterte Messunsicherheit U errechnet sich demnach im Falle der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten HBCD-Analytik durch Multiplikation der kombinierten Standardunsicherheit u_c mit dem Erweiterungsfaktor $k = 2,8$ (Gleichung 9).

$$U (\%) = k \cdot u_c = k \cdot \sqrt{u(\text{Chrom})^2 + u(x_a)^2 + u(\text{Std}_{\text{HBCD}})^2 + u(E)^2 + u(\text{Extr})^2 + u(F)^2} \quad (9)$$

Mit den relativen Unsicherheitsbeiträgen:

$u(\text{Chrom})$:	manuelle Integration der Analytsignale
$u(x_a)$:	Kalibrierung beim entsprechenden Analytgehalt
$u(\text{Std}_{\text{HBCD}})$:	verwendete Standards (Reinheit)
$u(E)$:	Probeneinwaage
$u(\text{Extr})$:	Analytkonzentration im Extrakt
$u(F)$:	Fettgehalt

Im vorliegenden Fall tragen überwiegend die Messunsicherheitskomponenten der Reinheit der Standards, der chromatographischen Trennung sowie der Analyt-Extraktion zur Messunsicherheit bei. Dahingegen sind die Unsicherheitsbeiträge der Kalibrierung sowie der Wägung als vernachlässigbar anzusehen (Tabelle 28).

Tabelle 28: Beiträge der einzelnen Unsicherheitskomponenten zur kombinierten (u_c) sowie erweiterten Messunsicherheit (U , $k = 2,8$) des Analysenverfahrens in Prozent am Beispiel einer Möweneiprobe.

HBCD-Isomer	$u(\text{Chrom})$	$u(x_a)$	$u(\text{Std}_{\text{HBCD}})$	$u(\text{Extr})$	$u(E)$	$u(F)$	u_c	U
(-)- α	1,00	0,006	2,89	0,023	0,057	0,650	3,12	8,75
(+)- α	1,00	0,005	2,89	0,058	0,057	0,650	3,12	8,75
(-)- β	1,00	0,295	2,89	0,908	0,057	0,650	3,27	9,15
(+)- β	1,00	0,121	2,89	6,125	0,057	0,650	6,88	19,25
(+)- γ	1,00	0,006	2,89	0,115	0,057	0,650	3,13	8,75
(-)- γ	1,00	0,008	2,89	0,950	0,057	0,650	3,27	9,14

4.3 Enantiomerenspezifische Bestimmung von HBCD in Möweneiern

Einhergehend mit der global stetig wachsenden landwirtschaftlichen sowie industriellen Entwicklung der vergangenen Jahrzehnte ist eine steigende Umweltbelastung durch Organohalogenverbindungen und andere Kontaminanten zu beobachten [316]. Einige dieser Verbindungen tendieren dazu, sich aufgrund ihrer Lipophilie und Persistenz in Organismen entlang der Nahrungsketten anzureichern [317]. Da Wasser- und Küstenvögel wesentliche Glieder in hohen trophischen Niveaus der jeweiligen Nahrungsketten der Meeres- und Küstenökosysteme sind, neigen sie zu einer verstärkten Akkumulation von Umweltkontaminanten [283,318]. Daher dienen diese Organismen der Wissenschaft häufig als Bioindikatoren für lokale Umweltverschmutzungen, wobei hinsichtlich der Akkumulation von Umweltschadstoffen vor allem die Eier der jeweiligen Vogelspezies im Mittelpunkt des Interesses stehen. Da während der Brutzeit die Fettreserven der weiblichen adulten Tiere für die Bildung der Eier mobilisiert werden, gelangen neben assimilierten Proteinen und Fetten auch diverse persistente Schadstoffe in das Ei. Die Gehalte dieser Kontaminationen lassen Rückschlüsse auf die kurz vor der Eiablage (einige Tage) aufgenommenen Nahrung der weiblichen Tiere zu [284]. Infolgedessen wurden Eier verschiedener Vogelspezies als Bioindikatoren für die Identifizierung zeitlicher Trends herangezogen, um die Entwicklung der Gehalte persistenter Schadstoffe zu überwachen. Analog dazu gibt es eine Reihe von Studien, welche sich mit den HBCD-Kontaminationen in Vogeleiern aus Grönland (Wanderfalke; [212]) und Südafrika (Heiliger Ibis (*Threskiornis aethiopicus*) und Kronenibis; [192]) beschäftigten (Kapitel 2.7.4.5 und 2.7.4.8 sowie Tabelle A8). Zusätzlich zu den Untersuchungen an ganzen Vogeleiern erfolgten auch Studien an Dottersäcken von Dickschnabellummen und Dreizehenmöwen (*Rissa tridactyla*) aus dem nördlichen Norwegen [319,320] bzw. an einzelnen Gewebeteilen von Vögeln auf ihre HBCD-Gehalte. Die chronologische Entwicklung von HBCD-Kontaminationen wurde bisher in Eiern von Trottellummen der

Ostsee [190], der Dreizehenmöwe aus Norwegen [321] sowie in Eiern des Wanderfalken aus Schweden [220] und Großbritannien [322] studiert. Nur wenige Untersuchungen basieren hierbei auf einer enantiomerenspezifischen Ermittlung der HBCD-Gehalte [94,175,322,323]. Der Großteil der in diesem Zusammenhang vorgestellten Analytik beschränkt sich auf die Bestimmung von HBCD als Summenparameter für alle Stereoisomere mittels GC.

Mit der Zielstellung, ein umfassendes Bild über die Höhe, den zeitlichen Verlauf sowie die Verteilung der einzelnen HBCD-Enantiomere in ausgewählten Spezies bzw. Möweneiern der deutschen Ost- und Nordseeküste zu erhalten, wurden im Rahmen einer Kooperation zwischen dem Umweltbundesamt und der BAM Eier der Silbermöwe von drei geographisch isolierten Brutkolonien (Inseln: Trischen, Mellum und Heuwiese), welche im Zeitraum zwischen 1988 und 2008 gesammelt wurden, untersucht (Kapitel 3.3.1). Die Silbermöwe fungiert in der Umweltprobenbank des Bundes als wichtiger Indikator für die Anreicherung von Schadstoffen in marinen Ökosystemen [324]. Sie eignet sich aufgrund ihrer weiten Verbreitung an den Küsten von Nord- und Ostsee, ihrem Vorkommen in stabilen Populationen, der guten Erreichbarkeit ihrer Brutplätze sowie ihrer sehr gut untersuchten Ernährungsgewohnheiten in besonderer Weise als Monitoring-Organismus.

4.3.1 Fett- und Feuchtegehalte

Die im Rahmen der Möweneiuntersuchungen bestimmten Wasser-, Fett- und Feuchtegehalte der jeweiligen Probenpools erstrecken sich probenspezifisch von 75,8-81,0, 28,13-43,05 bzw. 1,07-4,39 Gew.-% (Tabelle 29) und dienen zur Korrektur bzw. Umrechnung der HBCD-Analysenergebnisse. Der Wassergehalt der Proben beträgt im Mittel ($77,0 \pm 1,0$) Gew.-% und zeigt somit erwartungsgemäß sowohl zeitlich als auch geographisch einen geringen Schwankungsbereich. Der Fettgehalt der gefriergetrockneten Eimatrices liegt im Mittel bei ($38,1 \pm 3,3$) Gew.-%, woraus sich unter Berücksichtigung der jeweiligen Wassergehalte ein gemittelter Fettgehalt im Vollei von ($8,77 \pm 0,75$) Gew.-% errechnet, welcher sehr gut mit den vorhandenen Literaturdaten übereinstimmt ($7,5$ - $9,5$ %; [325]).

Tabelle 29: Wasser-, Fett- und Feuchtegehalte (Gew.-% \pm s) der von den Inseln Heuwiese, Trischen und Mellum stammenden Silbermöweneiprüben.

Probenahmejahr	Wassergehalt ^a	Fettgehalt ^b	Feuchtegehalt ^b
Heuwiese			
1998	77,0	$38,30 \pm 0,29$	$1,70 \pm 0,08$
2000	77,1	$41,05 \pm 4,36$	$1,27 \pm 0,03$
2002	81,0	$41,51 \pm 0,75$	$1,85 \pm 0,06$
2004	76,1	$37,46 \pm 0,73$	$1,55 \pm 0,08$
2006	77,3	$38,41 \pm 0,81$	$2,80 \pm 0,05$
2008	78,0	$43,05 \pm 2,44$	$3,32 \pm 0,10$
Trischen			
1988	77,0	$36,30 \pm 0,10$	$1,43 \pm 0,00$
1991	76,0	$28,13 \pm 0,27$	$1,07 \pm 0,04$
1994	77,0	$38,24 \pm 0,35$	$1,36 \pm 0,02$
1996	77,0	$39,29 \pm 0,24$	$1,58 \pm 0,01$
1998	77,0	$28,22 \pm 0,67$	$1,54 \pm 0,04$
2000	77,4	$40,33 \pm 0,25$	$2,13 \pm 0,05$
2002	76,8	$37,94 \pm 0,25$	$1,64 \pm 0,07$
2004	75,8	$40,28 \pm 0,19$	$1,16 \pm 0,06$
2006	77,4	$37,36 \pm 2,31$	$2,34 \pm 0,28$
2008	76,6	$38,86 \pm 0,58$	$1,37 \pm 0,09$

Probenahmejahr	Wassergehalt ^a	Fettgehalt ^b	Feuchtegehalt ^b
Mellum			
1988	76,0	38,92 ± 0,25	4,39 ± 0,05
1991	77,0	39,44 ± 0,23	1,89 ± 0,09
1994	76,0	38,45 ± 0,29	2,29 ± 0,01
1996	77,0	39,20 ± 0,02	3,41 ± 0,11
1998	77,0	39,57 ± 1,22	1,27 ± 0,09
2000	77,9	37,63 ± 1,47	1,93 ± 0,00
2002	76,4	38,64 ± 0,76	1,86 ± 0,02
2004	76,1	38,29 ± 0,57	1,40 ± 0,08
2006	77,3	38,96 ± 0,40	1,79 ± 0,05
2008	76,9	37,46 ± 0,87	1,45 ± 0,09

^a bezogen auf die frische Vollei (Angaben laut UBA); ^b bezogen auf das gefriergetrocknete Vollei

4.3.2 HBCD-Gehalte: Chirale Signaturen und zeitlicher Trend

Im Folgenden werden die in der Tabelle 30 zusammengestellten, auf den Fettgehalt bezogenen (lw) Analysenergebnisse der einzelnen HBCD-Enantiomere für die verschiedenen Silbermöweneiprobe diskutiert. Im Vergleich zu β - und γ -HBCD, die aufgrund der geringen Gehalte lediglich eine untergeordnete Rolle spielen, wurden die α -HBCD-Enantiomere in allen 26 untersuchten Eiprobe mit mittleren Gehalten zwischen 1,68 und 65,9 ng g⁻¹ lw nachgewiesen. Die (-)- α -HBCD-Gehalte liegen hierbei zwischen $2,06 \pm 0,62$ und $65,86 \pm 2,14$ ng g⁻¹ lw, die (+)- α -HBCD-Gehalte zwischen $1,68 \pm 0,37$ und $44,74 \pm 1,65$ ng g⁻¹ lw. Die höchsten α -HBCD-Gehalte (gesamt) wurden in Eiprobe der Insel Mellum aus dem Jahr 2000 identifiziert.

Beim Vergleich der beiden Nordseeinseln fällt auf, dass sich die mittlere HBCD-Belastung der Proben trotz der geringen geographischen Entfernung der beiden Inseln (50 km) unterscheidet. Die gemittelten HBCD-Gehalte der Insel Mellum liegen hierbei mit 58,18 ng g⁻¹ lw um Faktor 1,8 über denen der Insel Trischen (33,24 ng g⁻¹ lw). Der Ursprung dieses Unterschieds kann neben der natürlichen Nahrung (bspw. Fisch, Muscheln sowie Würmern) auch auf Nahrungsquellen zurückgeführt werden, die durch den Menschen geschaffen wurden.

Tabelle 30: HBCD-Isomeren-Gehalte (ng g⁻¹ lw ± U) von Silbermöweneiprobe der Nord- und Ostseeinseln zwischen 1988-2008.

Herkunft/ Jahr	(±)- α -HBCD		(±)- β -HBCD		(±)- γ -HBCD	
	(-)- α -	(+)- α -	(-)- β -	(+)- β -	(+)- γ -	(-)- γ -
Trischen						
1988	11,58 ± 0,36	9,07 ± 0,34	n. d.	n. d.	0,43 ± 0,01	0,38 ± 0,01
1991	12,10 ± 0,42	7,85 ± 0,26	n. d.	n. d.	0,40 ± 0,01	0,39 ± 0,01
1994	7,71 ± 0,29	5,87 ± 0,22	n. d.	n. d.	0,12 ± 0,00 ₅	0,10 ± 0,00 ₄
1996	17,32 ± 0,60	12,81 ± 0,44	n. d.	0,05 ± 0,00 ₀₁	0,17 ± 0,01	0,10 ± 0,00 ₃
1998	22,35 ± 0,76	15,46 ± 0,51	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
2000	41,07 ± 1,45	31,23 ± 1,10	0,04 ± 0,00 ₁	0,04 ± 0,00 ₃	1,30 ± 0,05	1,11 ± 0,04
2002	30,82 ± 1,53	19,69 ± 0,66	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,00 ₅	2,64 ± 0,09	2,70 ± 0,09
2004	22,03 ± 0,79	15,24 ± 0,55	n. d.	n. d.	0,20 ± 0,01	0,15 ± 0,01
2006	9,76 ± 0,32	6,34 ± 0,29	0,59 ± 0,03	0,61 ± 0,02	3,09 ± 0,34	2,76 ± 0,11
2008	8,89 ± 0,34	6,28 ± 0,27	0,07 ± 0,00 ₄	0,08 ± 0,00 ₅	0,67 ± 0,12	0,56 ± 0,03

Herkunft/ Jahr	(±)-α-HBCD		(±)-β-HBCD		(±)-γ-HBCD	
	(-)-α-	(+)-α-	(-)-β-	(+)-β-	(+)-γ-	(-)-γ-
Mellum						
1988	21,77 ± 0,75	16,79 ± 0,58	0,07 ± 0,00 ₃	0,07 ± 0,00 ₂	0,26 ± 0,01	0,22 ± 0,01
1991	21,90 ± 0,75	14,11 ± 0,49	0,10 ± 0,00 ₁	0,02 ± 0,00 ₁	0,13 ± 0,00 ₅	0,05 ± 0,00 ₂
1994	2,06 ± 0,62	1,68 ± 0,37	0,05 ± 0,00 ₁	0,05 ± 0,00 ₁	0,19 ± 0,00 ₂	0,14 ± 0,00 ₁
1996	32,46 ± 1,10	23,89 ± 0,80	0,02 ± 0,00 ₁	0,03 ± 0,00 ₁	0,09 ± 0,00 ₃	0,02 ± 0,00 ₁
1998	16,64 ± 0,57	12,40 ± 0,42	n. d.	0,01 ± 0,00 ₁	0,09 ± 0,00 ₃	0,01 ± 0,00 ₁
2000	65,86 ± 2,14	40,76 ± 1,75	0,02 ± 0,00 ₁	0,02 ± 0,00 ₁	0,10 ± 0,00 ₃	0,10 ± 0,00 ₃
2002	44,90 ± 1,86	31,58 ± 1,05	0,38 ± 0,06	0,38 ± 0,08	2,15 ± 0,10	2,08 ± 0,07
2004	49,77 ± 1,71	34,30 ± 1,16	0,02 ± 0,00 ₁	0,06 ± 0,00 ₃	0,47 ± 0,02	0,44 ± 0,02
2006	51,86 ± 1,80	32,09 ± 1,13	0,08 ± 0,00 ₃	0,12 ± 0,00 ₄	0,64 ± 0,02	0,54 ± 0,03
2008	36,53 ± 1,47	19,10 ± 0,62	0,07 ± 0,00 ₁	0,06 ± 0,00 ₂	1,06 ± 0,04	0,99 ± 0,03
Heuwiese						
1998	34,25 ± 1,21	28,81 ± 0,97	n. d.	0,01 ± 0,00 ₀₄	0,52 ± 0,03	0,24 ± 0,01
2000	52,01 ± 1,86	44,74 ± 1,65	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,87 ± 0,03	0,79 ± 0,03
2002	51,90 ± 1,88	43,16 ± 1,88	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,00 ₅	1,15 ± 0,09	0,69 ± 0,03
2004	46,82 ± 2,18	38,12 ± 1,44	0,07 ± 0,00 ₃	0,06 ± 0,00 ₂	0,54 ± 0,02	0,36 ± 0,01
2006	35,02 ± 1,17	31,90 ± 1,46	1,79 ± 0,06	1,82 ± 0,13	1,93 ± 0,06	1,80 ± 0,06
2008	13,30 ± 0,53	11,62 ± 0,49	0,01 ± 0,00 ₆	n. d.	0,09 ± 0,01	0,12 ± 0,01

Da Silbermöwen auch in küstennahen urbanisierten Gebieten nach Nahrung suchen, bieten u. a. auch Mülldeponien sowie fischverarbeitende Betriebe ein entsprechendes Nahrungsangebot, welches mitunter deutlich mit HBCD belastet sein kann. Betrachtet man die Verteilung solcher Standorte in der Umgebung der beiden beprobten Inseln, so ist festzustellen, dass trotz ihrer geographischen Nähe sich in einem Umkreis von 60 km um die Insel Trischen keine solchen Standorte befinden, wohingegen die Insel Mellum im selben Radius mindestens sechs entsprechende Standorte aufweist (u. a. Mülldeponien). Infolge dieses Sachverhaltes und unter Berücksichtigung einer Studie von Harris, in welche ein Bewegungsradius der Silbermöwe von >100 km festgestellt wurde [326], wären die höheren HBCD-Gehalte der Silbermöweneier der Insel Mellum durchaus zu erklären. Versucht man jedoch den gleichen Interpretationsansatz auf die HBCD-Belastungen der Proben der Ostseeinsel Heuwiese anzuwenden, so kann dieser nicht als allgemeingültig bestätigt werden, da trotz ihrer geographischen Lage inmitten eines Landschaftsschutzgebietes die dort gesammelten Proben vergleichsweise hohe Gehalte aufweisen.

Die Gesamt-HBCD-Gehalte liegen bei den Silbermöweneiprobe n der Insel Trischen zwischen 13,8 und 74,8 ng g⁻¹ lw, bei Proben der Insel Mellum zwischen 4,17 und 107 ng g⁻¹ lw sowie zwischen 25,1 und 98,7 ng g⁻¹ lw bei Proben der Insel Heuwiese. Die ermittelten Gehalte stimmen somit mit Daten von Silbermöweneiern aus Nord-Norwegen überein, welche einen Gesamt-HBCD-Gehalt von 16-108 ng g⁻¹ lw aufweisen [321]. Bei weltweiter Betrachtung verschiedener Vogelspezies sowie weiterer Gewebearten sind die ermittelten HBCD-Gehalte im Mittelfeld einzuordnen. Blutuntersuchungen von brütenden Weißkopfseeadlern der nordamerikanischen Westküste aus den Jahren 2002/03 ergaben relativ geringe Gehalte von <0,01 ng g⁻¹ lw [86], wohingegen in Eiern diverser Möwenspezies, welche zwischen der kanadischen Ost- und Westküste in 2008 gesammelt wurden, Gehalte von 73,5-152,9 ng g⁻¹ lw bestimmt wurden und somit mit den ermittelten Gehalten der Silbermöweneier zum Teil sehr gut übereinstimmen [327]. Die höchsten HBCD-Belastungen in Wildvögeln wurden bislang im Muskelfleisch von Sperbern (*Accipiter nisus*) der britischen Inseln mit bis zu 19.000 ng g⁻¹ lw bestimmt ([212,322]; Tabelle A8).

In allen untersuchten Vogeiprobe n stellt das (±)-α-HBCD das dominierende Diastereomer dar, was beispielhaft durch das in Abbildung 32 dargestellte Totalionenchromatogramm eines aufgereinigten Eiprobe nextraktes der Insel Mellum des Probenahmejahres 2000 verdeutlicht werden soll.

Diastereomerenspezifische Untersuchungsergebnisse der vorhandenen Literatur an Silbermöweneiern sowie Analysendaten von Eiern der Dreizehenmöwe, Eiderente (*Somateria mollissima*), Mantelmöwe (*Larus marinus*) und des Papageitauchers [175,321,323] untermauern die Beobachtungen dieser Studie (Kapitel 2.7.3).

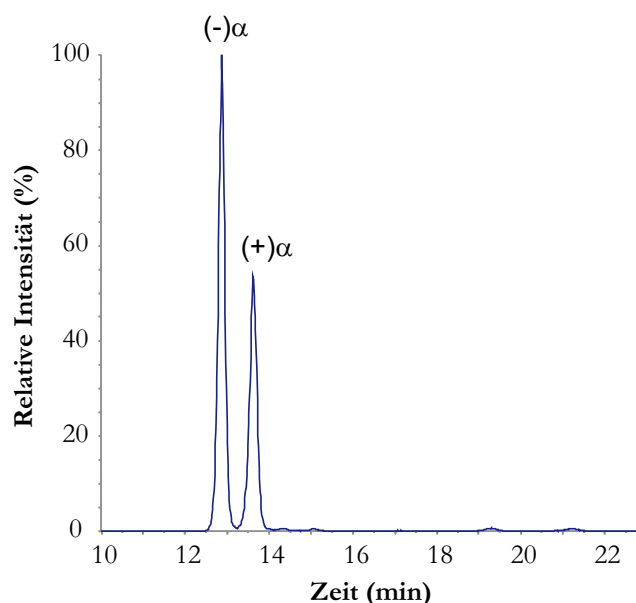


Abbildung 32: Totalionen-Chromatogramm eines aufgereinigten Silbermöwenei-Extraktes (Mellum; Probenahmejahr: 2000).

Aktuell bestehen Diskussionen über die Gründe für die Dominanz von α -HBCD in Biota, wobei vornehmlich die Auffassung vertreten wird, dass die Ursachen in den unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften der einzelnen HBCD-Diastereomere, einhergehend mit der innerhalb der Nahrungsketten auftretenden isomerenspezifischen Bioakkumulation zu sehen sind [14,74,180,328]. Darüber hinaus könnten eine bessere Bioverfügbarkeit oder auch eine langsamere Ausscheidung von α -HBCD sowie eine Bioisomerisierung, d. h. die metabolische Umwandlung der β - und γ -HBCD-Enantiomere in α -HBCD mögliche Gründe sein (Kapitel 2.7.3). Die durch Untersuchungen erworbenen Kenntnisse in Bezug auf das Ernährungsverhalten der Silbermöwe sind weitreichend und beschreiben verschiedene Sorten von Fisch, Muscheln sowie Krustentieren als Hauptnahrungsquellen [329]. Darüber hinaus spielen kleinere Vögel, Vogeleiern und Fischereiabfälle, aber auch terrestrische Organismen (bspw. Erdwürmer, Insekten, kleine Säugetiere) und Siedlungsabfälle in der artspezifischen Nahrungssuchstrategie eine große Rolle. Für eine Komplettierung der Datenlage und damit einhergehenden abschließenden Abschätzung des Einflusses der Bioakkumulation auf die HBCD-Diastereomerenverteilung fehlen jedoch noch weitere Gehaltsbestimmungen in den entsprechenden Kompartimenten.

Die enantiomerenspezifische Darstellung der α -HBCD-Gehalte in Abbildung 33 verdeutlicht die chronologische Entwicklung der Möweneikontaminationen im Zeitraum zwischen 1988 und 2008, wobei bei Betrachtung der Nordseeinseln (Abbildung 33 A und B) diese einen sehr ähnlichen zweiphasigen Verlauf aufzeigen. Die erste Phase kennzeichnet einen signifikanten Anstieg der HBCD-Gehalte ab dem Jahr 1994, gefolgt von einem entsprechenden Rückgang ab dem Jahr 2000. Die Gehalte beider Inseln haben ihr jeweiliges Minimum im Jahr 1994. Während allerdings die Gehalte der Proben der Insel Trischen von 2000 bis 2008 kontinuierlich sinken und am Ende vergleichbare Belastungen wie im Jahr 1988 aufweisen, bleiben die Gehalte der Proben von Mellum nach einem Absinken im Jahr 2002 auf einem höheren Niveau im Vergleich zu den Gehalten der Jahre 1988/91. Im Hinblick auf die (\pm) - α -HBCD-Gehalte der Möweneiprüben der Ostseeinsel Heuwiese, ist die zeitliche Entwicklung unter Berücksichtigung des Maximums im Jahr 2000, gefolgt von einem Rückgang der Belastung analog zu den zeitlichen Verläufen der beiden Nordseeinseln. Da in diesem Fall leider keine Probenmaterialien aus der Periode von 1988-

1998 zur Verfügung standen, kann das gemeinsame Minimum der HBCD-Kontaminationen der Nordseeinseln hier nicht bestätigt werden.

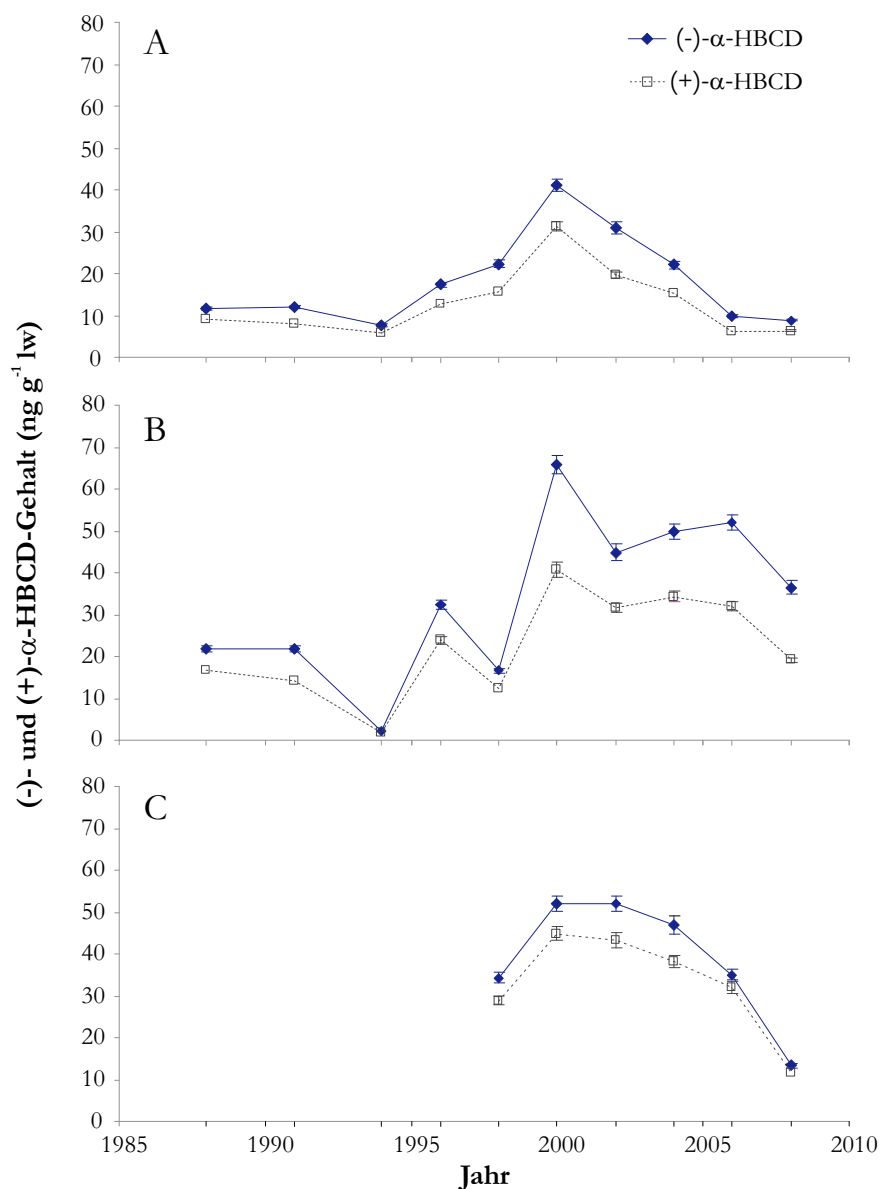


Abbildung 33: Zeitliche Entwicklung der enantiomerspezifischen α -HBCD-Gehalte \pm U ($\text{ng g}^{-1} \text{lw}$) in Silbermöweneiern der Inseln Trischen (A), Mellum (B) und Heuwiese (C).

Zur statistischen Untersuchung der ermittelten Analysenergebnisse der Möweneiprüben auf mögliche Tendenzen bzw. Unterschiede wurden die zugrunde liegenden Daten unter Verwendung chemometrischer Methoden ausgewertet. Da, wie bereits beschrieben, das α -HBCD in allen untersuchten Probenextrakten der Möweneiprüben nachgewiesen sowie quantifiziert werden konnte und es darüber hinaus die Diastereomerenverteilung dominiert, konzentrierten sich die Berechnungen (Ein- und Zweifaktorielle Varianzanalyse (*analysis of variance*, ANOVA), Ordinary Least Squares- (OLS-) Regression, Cluster- und Diskriminanzanalyse) ausschließlich auf die entsprechenden Gehalte bzw. EF-Werte dieses Diastereomers [330].

Um zunächst die Frage zu klären, ob sich die α -HBCD-Gehalte der Eier von den jeweiligen Inseln zwischen den Probenahmejahren signifikant voneinander unterscheiden und somit einen zeitlichen Trend aufweisen, wurde die einfaktorielle ANOVA herangezogen. Tabelle 31 zeigt die resultierenden F-Werte, anhand derer die signifikanten Unterschiede (Signifikanz: $\alpha = 0,05 > p\text{-Wert}$) der $\text{(-)-}\alpha\text{-HBCD}$ -

Gehalte gut zu erkennen sind. Die F-Werte der Möweneiprobe der Insel Heuwiese zeigen hierbei mit Abstand die geringsten noch signifikanten Unterschiede.

Tabelle 31: F-Werte und deren Signifikanz (p-Wert), basierend auf der einfaktoriellen ANOVA für die (-)- und (+)- α -HBCD-Gehalte in Möweneiprobe bei Betrachtung der Probenahmejahre.

Insel	Enantiomer	F-Wert	p-Wert
Trischen	(-)- α -HBCD	1.791	$<1 \times 10^{-6}$
	(+)- α -HBCD	2.140	$<1 \times 10^{-6}$
Mellum	(-)- α -HBCD	585	$<1 \times 10^{-6}$
	(+)- α -HBCD	1.648	$<1 \times 10^{-6}$
Heuwiese	(-)- α -HBCD	86	$1,71 \times 10^{-5}$
	(+)- α -HBCD	55,6	$6,11 \times 10^{-5}$

Die weitere statistische Betrachtung verdeutlicht, dass mit Ausnahme der Abnahme der HBCD-Gehalte der Eier von der Insel Mellum (ab dem Jahr 2000), der zeitliche Verlauf der ermittelten HBCD-Gehalte der Eier aller drei Inseln unter Berücksichtigung der Variabilität zwischen den Jahren signifikant ist. So sanken die (\pm)- α -HBCD-Gehalte zwischen 2000 und 2008 auf der Insel Mellum etwa um die Hälfte des Wertes ($106,6 \rightarrow 55,6 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$) und auf Trischen ($72,3 \rightarrow 15,2 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$) und Heuwiese ($96,8 \rightarrow 24,9 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$) um etwa 75 %. Die durchschnittlichen Kontaminationen lagen zwar innerhalb desselben Gehaltsbereiches, waren allerdings dennoch deutlich voneinander verschieden. Die jeweils untersuchten Stichproben setzten sich aus 90-140 einzelnen Eiern zusammen und stellen somit die größte Datenbasis aller bisherigen Studien dar. Infolge dieser großen Stichprobenumfänge kann angenommen werden, dass die ermittelten Gehalte den Mittelwerten der Grundgesamtheit (μ) nahe kommen, d. h. eine Verzerrung der Mittelwerte durch einzelne Eier mit abweichendem Gehalt (Stichprobenfehler) als vernachlässigbar anzusehen ist. Aufbauend auf den durch die Datenverdichtung der jeweiligen Stichproben erhaltenen statistischen Größen kann somit eine verlässliche Auswertung und Interpretation erfolgen.

Der Anstieg der HBCD-Gehalte zwischen 1994 und 2000 könnte einen anwachsenden industriellen Bedarf an HBCD in dieser Periode reflektieren. Allerdings ist der Ursprung der HBCD-Emissionen aufgrund mangelnder Informationen über die EU-weiten Produktionsmengen und Umsatzangaben sowohl der HBCD-produzierenden als auch der HBCD-verarbeitenden Industrie nur schwer zu erörtern. Im Jahr 2001 lag die weltweite Nachfrage nach HBCD bei ca. 16.700 metrischen Tonnen, wovon allein 9.500 t auf die EU entfielen [94]. Die von der VECAP publizierten HBCD-Verkaufszahlen des europäischen Marktes betragen 10.897 t für das Jahr 2007 bzw. 8.913 t für 2008 [32]. In Anbetracht dieser Daten ist jedoch im Zeitraum von 2001 bis 2008 keine direkte Korrelation mit dem ermittelten zeitlichen Verlauf der HBCD-Gehalte in den Silbermöweneiern feststellbar.

Bei der Betrachtung aller vorliegenden Literaturdaten zu Untersuchungen hinsichtlich der zeitlichen Entwicklung der HBCD-Gehalte in Vogeleiern zeigt sich eine hohe Variabilität der Ergebnisse ohne eine einheitliche Tendenz. Während im Zeitraum zwischen 1983 und 2003 in norwegischen Vogeleiern ein signifikanter Anstieg zu verzeichnen war [211,321], konnte diese Tendenz an zwischen den Jahren 1991 und 2001 an der südschwedischen Küste gesammelten Eiern der Trottellumme nicht bestätigt werden [190]. Im Gegensatz zu diesen Daten ergaben Untersuchungen von grönländischen Wanderfalkeneiern zwischen 1986 und 2003 [212] und Waldkauzeiern (*Strix aluco*) aus Zentral-Norwegen zwischen 1986 und 2004 einen leichten, allerdings nicht signifikanten Abwärtstrend der HBCD-Gehalte [66].

Erst vor kurzem zeigten die von Johansson *et al.* publizierten Untersuchungsergebnisse bezüglich der HBCD-Belastung in schwedischen Wanderfalkeneiern über einen Zeitraum von 33 Jahren (1974-2007) ein signifikantes Ansteigen der HBCD-Gehalte ab dem Jahr 1986 [220]. Vergleichbar zu den von Sellström *et al.* durchgeführten Untersuchungen an Trottellummeneiern der Ostsee (1969-2001) erfolgte anschließend ab Mitte der 1980er Jahre ein exponentieller Anstieg (Abbildung 34) bis ins Jahr 2003 [190]. Die feststellbare stete Zunahme der Gehalte stimmt hierbei weitestgehend mit den bereits vorgestellten

Beobachtungen in Silbermöweneiern überein. Die ermittelte Abnahme der HBCD-Gehalte in den Möweneiern ab dem Jahr 2000 konnte jedoch bislang weder durch weitere Untersuchungen an Vogeleiern der gleichen, noch anderer Spezies bestätigt werden.

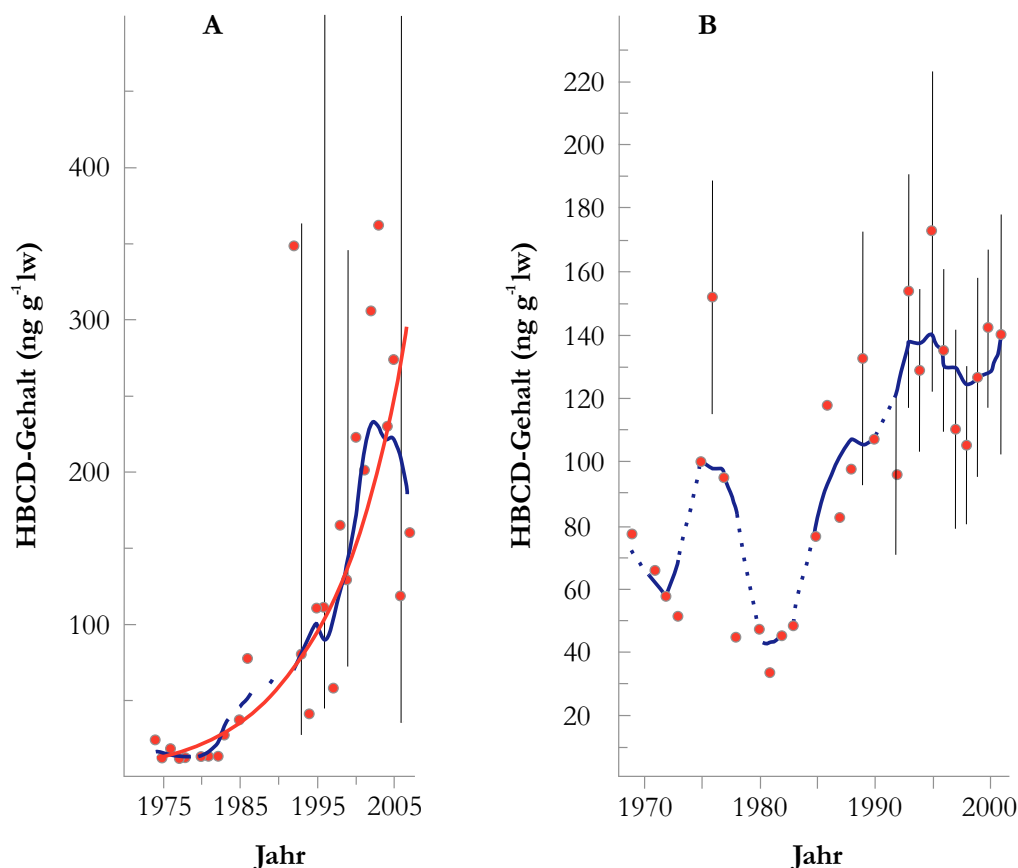


Abbildung 34: Chronologische Entwicklung der HBCD-Gehalte in Wanderfalkeneiern aus Schweden zwischen 1974 und 2007 (A; [220]) sowie in Eiern der Trottellumme der Ostsee zwischen 1969 und 2001 (B; [190]). Die blauen Linien entsprechen hierbei einer Glättung der Daten über sieben (A) bzw. fünf (B) Analysenmittelwerten. Die rote Linie der Grafik B stellt die logarithmische Regression der Daten dar.

Einhergehend mit dem Verwendungs- und Inverkehrbringungsverbot der penta- und octabromierten Diphenylether innerhalb der EU mit Wirkung ab dem 15. August 2004 [331] haben sowohl die Hersteller als auch die Verwender polybromierter Flammschutzmittel umfassende Bemühungen unternommen, um die HBCD-Emissionen in die Umwelt zu reduzieren und zu kontrollieren [117]. Bereits weit im Vorfeld dieser gesetzlichen EU-weiten Festlegung wurde im Jahr 1997 der einzige deutsche HBCD-Produktionsstandort geschlossen. Die Auswirkungen solch einer Fabrikschließung auf die Umwelt bzw. deren Belastung mit Schadstoffen wurden durch die von Law *et al.* durchgeführten Untersuchungen bezüglich der HBCD-Kontaminationen im Fettgewebe Gewöhnlicher Schweinswale im Nordosten Englands verdeutlicht. Im Rahmen dieser Arbeit konnte ein Absinken der Kontaminationsniveaus festgestellt werden, nachdem eine in dieser Region befindliche HBCD-Produktionsstätte im Jahr 2003 stillgelegt wurde [186]. Es ist daher naheliegend, dass die Schließungen mehrerer Produktionsstätten, einhergehend mit der gemeinsamen Übereinkunft der Industrie, die Emissionen zu senken, zu einem Rückgang der HBCD-Kontaminationen in Silbermöweneiern auf den untersuchten Nord- und Ostseeeinseln führten. Allerdings sind in dieser Annahme nicht die umfassenden Ernährungsgewohnheiten der Silbermöwe berücksichtigt, welche sich u. a. auch von Hausabfällen auf Mülldeponien ernähren. Bereits Morris *et al.* sowie Suzuki und Hasegawa berichteten von einer Ausspülung bzw. Migration von HBCD aus Abfällen von Deponieanlagen über Sickerwässer in die nähere Umgebung [112,332]. Ilyina und Hunziker untersuchten unter Einsatz von Modellrechnungen die räumliche und chronologische Verteilung von HBCD zwischen den Jahren 1995 und 2005 in ausgewählten Gebieten der Nordsee (u. a. auch den

Bereich um die für diese Arbeit beprobten Inseln Trischen und Mellum; [333]). Die Berechnungen erfolgten auf Basis von drei verschiedenen Szenarios, bei welchen unterschiedliche Abbaugeschwindigkeiten (Halbwertszeiten) von HBCD in Wasser bzw. Oberflächensediment angenommen wurden („best understanding“, „fast degrading“ und „persistent“). Hierbei ergab sich im Bereich des Elbezuflusses (nahe der beiden Nordseeinseln Trischen und Mellum) die Etablierung eines *steady-state* bzw. im Falle des „persistent“-Szenarios ein kontinuierlicher Anstieg der HBCD-Gehalte sowohl im Oberflächenwasser (partikelgebunden und gelöst) als auch im Sediment. Zusammenfassend ist eine abschließende Bewertung der beobachteten HBCD-Kontaminationen aufgrund der komplexen Ernährungsgewohnheiten der Silbermöwen äußerst schwierig. Perspektivisch sollten daher, unter Berücksichtigung der zeitlichen Entwicklung der HBCD-Emissionen, weitere Analysendaten der umgebenden Umwelt, im Speziellen der Nahrungsquellen der Silbermöwen, erhoben werden.

4.3.3 Enantiomerenspezifische Anreicherung von HBCD

Die Berechnung der Enantiomerenfraktion (EF-Wert) und somit der chiralen Signatur stellt ein wichtiges Instrument zum Nachweis des Vorliegens einer enantiomerenspezifischen Anreicherung dar. Da die Gehalte von β - und γ -HBCD in Biota lediglich eine untergeordnete Rolle spielen, wurden die EF-Werte gemäß der nachfolgenden Gleichung nur für das α -HBCD berechnet (EF_{α} ; [334]):

$$EF = \frac{(+)\text{ E}}{(+)\text{ E} + (-)\text{ E}} \quad (10)$$

Hierbei repräsentieren (+) E und (-) E die Peakflächen der jeweiligen (+)- bzw. (-)-Enantiomere. Ein racemisches Gemisch resultiert nach Gleichung 10 somit in einem EF-Wert von 0,5, während Werte von null bzw. eins reine (-)- bzw. (+)-Enantiomere beschreiben. Die errechneten EF_{α} -Werte der Silbermöweneier sind in Tabelle 32 dargestellt. Im Gegensatz zu den bisher veröffentlichten Untersuchungsergebnissen hinsichtlich einer enantiomerenspezifischen Anreicherung von HBCD, werden im Rahmen dieser Arbeit auch die den EF_{α} -Werten zugeordneten erweiterten Messunsicherheiten (U) in der Diskussion berücksichtigt. In den meisten Studien wurden EF-Werte nahe des racemischen Wertes von 0,5 angegeben. Ohne die Angabe der jeweils zugehörigen Messunsicherheit ist eine klare Beurteilung dieser Daten jedoch nicht möglich, wodurch eine Diskussion und Einordnung in die bestehende Datenbasis nur schwer durchgeführt werden kann [130,131].

Tabelle 32: EF_{α} -Werte der Silbermöweneier (\pm U) der drei Standorte in Nord- und Ostsee.

Jahr	EF_{α} -Wert \pm U ^a	EF_{α} -Wert \pm U ^a	EF_{α} -Wert \pm U ^a
	Trischen	Mellum	Heuwiese
1988	0,44 \pm 0,04	0,44 \pm 0,02	-
1991	0,39 \pm 0,02	0,39 \pm 0,02	-
1994	0,43 \pm 0,04	0,38 \pm 0,02	-
1996	0,43 \pm 0,02	0,42 \pm 0,02	-
1998	0,41 \pm 0,02	0,43 \pm 0,02	0,46 \pm 0,03
2000	0,43 \pm 0,02	0,38 \pm 0,04	0,46 \pm 0,03
2002	0,39 \pm 0,04	0,41 \pm 0,03	0,45 \pm 0,04
2004	0,41 \pm 0,03	0,41 \pm 0,02	0,45 \pm 0,05 ^b
2006	0,39 \pm 0,05	0,38 \pm 0,02	0,48 \pm 0,06 ^b
2008	0,41 \pm 0,05	0,34 \pm 0,03	0,47 \pm 0,04 ^b

^a erweiterte Messunsicherheit; ^b EF_{α} -Wert ist nicht signifikant verschieden von 0,5

Die EF_{α} -Werte in Tabelle 32 zeigen mit Ausnahme der Proben von der Ostseeinsel Heuwiese in den Jahren 2004-2008 eine deutliche Abweichung vom racemischen Gemisch (EF_{α} -Werte $<0,5$) und deuten somit auf eine enantiomerenspezifische Anreicherung des (-)- α -HBCDs hin. Vergleichend dazu konnten

in Eiern des Wanderfalken sowie der Flussseseschwalbe (Schweden) ähnliche bzw. deutlich stärkere Anreicherungen von (-)- α -HBCD beobachtet werden (EF_x : 0,14-0,34; [94]). Im Rahmen derselben Studie wurden allerdings im Falle von Proben eines Seeadlers EF_x -Werte oberhalb von 0,5 und somit eine enantiomerenspezifische Anreicherung des (+)- α -HBCDs nachgewiesen. Die auftretenden Diskrepanzen in den ermittelten EF_x -Werten könnten auf Unterschiede in der Exposition und/oder der Anreicherung der verschiedenen Spezies beruhen. Darüber hinaus zeigen verfügbare Daten anderer Biotaproben ebenfalls eine Anreicherung des (-)- α -HBCD-Enantiomers in diversen Gewebearten wie bspw. im Muskelfleisch des Herings (Schweden, EF_x : 0,23-0,24; [94]), Leber- und Muskelgewebe der Seezunge (EF_x : 0,42-0,43; [138]), vom Nordatlantik-Fisch (EF_x : 0,36-0,52; [145]) sowie im Fettgewebe vom Narwal, Belugawal und Walross (östliche Arktis; [189]), was wiederum die beobachteten Daten untermauert.

4.3.4 Korrelation der Stickstoff- und Kohlenstoff-Isotopie mit den HBCD-Gehalten

Die Anteile stabiler Isotope sind für die Charakterisierung der untersuchten Biota hinsichtlich ihres trophischen Niveaus sowie ihrer Nahrungsquellen von wesentlicher Bedeutung. $\delta^{15}\text{N}$ -Werte bieten hierbei die Möglichkeit der Einschätzung der trophischen Ebene, da die schwereren ^{15}N -Isotope sich mit jeder trophischen Stufe in der Nahrungskette vermehrt anreichern. Die Kohlenstoff-Isotopien ($\delta^{13}\text{C}$) diskriminieren dagegen aufgrund des unterschiedlichen Einbaus im Rahmen des photosynthetischen Stoffwechsels zwischen marinen und terrestrischen Futterquellen, was wiederum Rückschlüsse auf das Nahrungsangebot zulässt. Metabolische Prozesse können eine Fraktionierung der Isotope hervorrufen, welche zu einer leichten Erhöhung der schwereren Kohlenstoff- und Stickstoff-Isotope im Organismus führt. So resultiert bspw. im Falle des Stickstoffs ein Anstieg des $\delta^{15}\text{N}$ -Wertes von 3-4 ‰ von einem trophischen Niveau zum nächsten aufgrund der Anreicherung des schwereren ^{15}N -Isotops im Rahmen der Stoffwechselprozesse im Organismus (Proteinsynthese) [335,336]. Allerdings ist ein direkter Vergleich der Isotopien ausschließlich bei Proben desselben Lebensraumes durchführbar, da vor allem regionale Umwelteinflüsse (bspw. das Klima) die Anteile der jeweiligen Isotopen stark beeinflussen.

Unter Verwendung der Stabil-Isotopen-Analytik sollten die von der Umweltprobenbank des Bundes zur Verfügung gestellten Silbermöweneier dahingehend untersucht werden, ob und in welchem Ausmaß sich das trophische Niveau der Spezies in den vergangenen Jahren verändert hat. Damit einhergehend sollten evtl. Änderungen des Ernährungsverhaltens untersucht und eine anschließende Korrelation mit den ermittelten HBCD-Gehalten durchgeführt werden. In der nachfolgenden Abbildung 35 (sowie in der Tabelle B3) sind die $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in Abhängigkeit vom jeweiligen Probenahmejahr dargestellt. Die untersuchten Silbermöweneier der Nordseeinseln zeigen einen Trend zu negativeren $\delta^{13}\text{C}$ -Werten. Die Daten der Proben der Insel Trischen sinken im Zeitraum zwischen 1988 und 2008 von -17,4 auf -18,7 ‰, die der Insel Mellum von -18,2 auf -19,9 ‰. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Ostseeinsel Heuwiese bleiben dagegen über die Zeit etwa konstant bei -21,5 ‰. Ein ähnliches Bild ergibt sich bei Betrachtung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte, welche im Falle der Proben der Insel Trischen von 19,1 auf 16,2 ‰ sowie für die Proben der Insel Mellum von 17,1 auf 14,9 ‰ sinken. Der Verlauf der Proben der Ostseeinsel Heuwiese ist hingegen schwankend und kann daher bestenfalls als konstant klassifiziert werden. Die $\delta^{13}\text{C}$ - bzw. $\delta^{15}\text{N}$ -Werte dienen einer Interpretation hinsichtlich der Ernährungsgewohnheiten der Silbermöwen während der Eientwicklung. Unter Berücksichtigung der Messunsicherheiten des Analysenverfahrens lassen sich deutliche Unterschiede dieser Werte zwischen den Inseln im betrachteten Zeitraum erkennen, welche somit auf Unterschiede im Nahrungsmuster schließen lassen. Die gemittelten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Silbermöweneier der Inseln Trischen ($-17,93 \pm 0,88$) ‰ und Mellum ($-19,12 \pm 0,95$) ‰ liegen innerhalb des für fleischfressende Küsten- und Seevögel typischen Bereiches [337] und deutet somit auf eine vorwiegend durch marine Nahrungsquellen geprägte Ernährung der Tiere hin. Vergleichend dazu beträgt die $\delta^{13}\text{C}$ -Schwankungsbreite für sich größtenteils von terrestrischen Organismen ernährenden Vögeln ($-22,90 \pm 0,88$) ‰ [337].

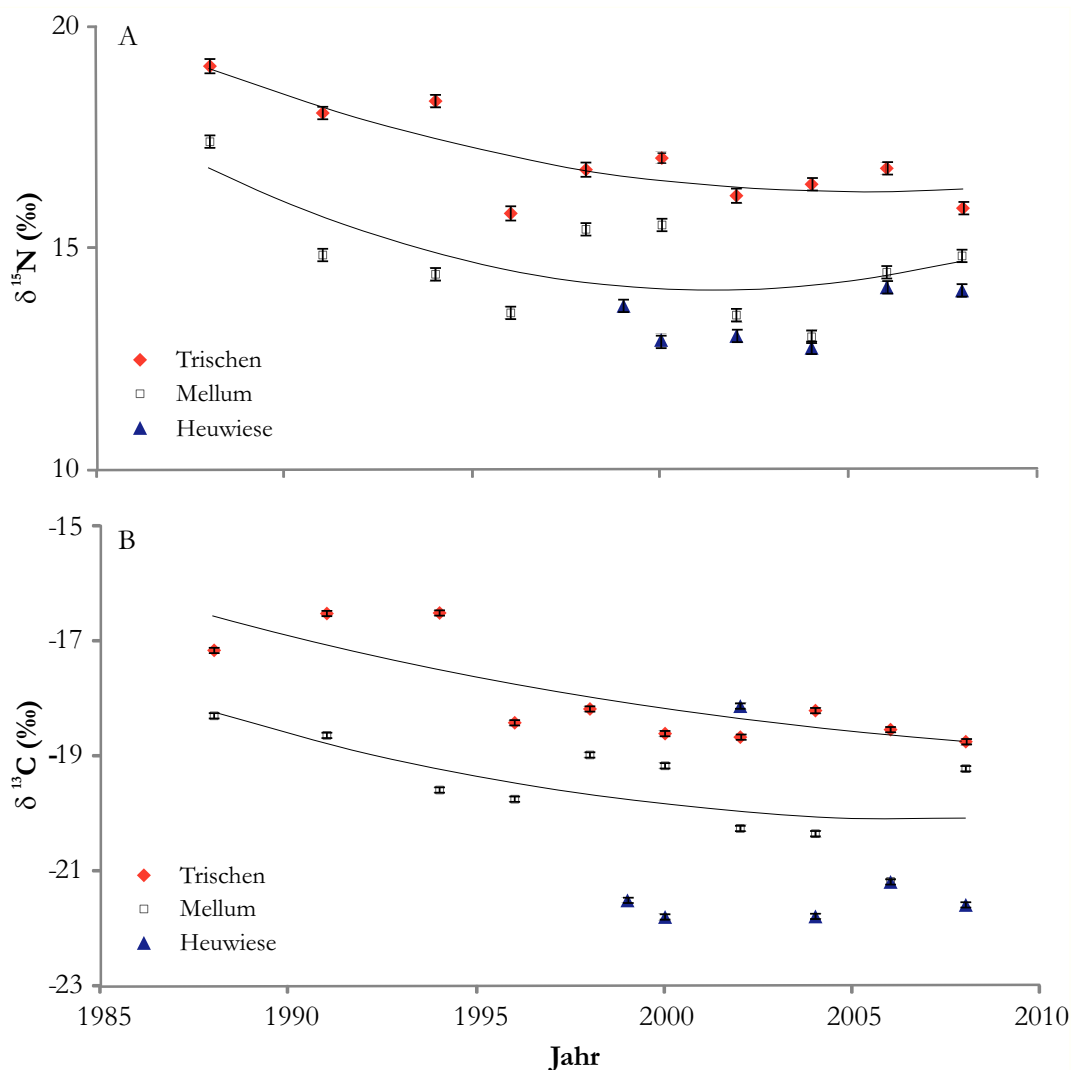


Abbildung 35: Plot von $\delta^{15}\text{N}$ (A) und $\delta^{13}\text{C}$ (B) in ‰ gegen das jeweilige Probenahmejahr mit erweiterter Messunsicherheit (U) für die Silbermöweneier der drei Nord- und Ostseeinseln Trischen, Mellum und Heuwiese (die Regression erfolgte über ein Polynom 1. Grades für die Daten von Trischen und Mellum).

Schlussfolgernd sind demnach die ermittelten negativeren $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der auf der Insel Heuwiese genommenen Proben (mit Ausnahme des Jahres 2002) auf eine stärkere Gewichtung von terrestrisch basierten Futterquellen in ihrer Ernährung der dort lebenden Silbermöwen zurückzuführen. Darüber hinaus ist bei den beiden Nordseeinseln ein signifikanter zeitlicher Verlauf der Isotopie-Werte hin zu negativeren Werten feststellbar. Die zeitliche Abnahme der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ist ein Indiz für eine Anreicherung der ^{12}C - bzw. eine Abreicherung der ^{13}C -Atome in den Probenmaterialien. Sie könnten in einer von der industriellen (Fischverarbeitung, Mülldeponien) als auch geographischen Umgebung (Mündungen großer Flüsse, Nähe zum Festland) unabhängigen Verschiebung der Ernährungsgewohnheiten/-muster hin zu einem größeren Anteil an terrestrischer Nahrung begründet sein.

Eine Gegenüberstellung der HBCD-Gehalte mit den jeweiligen Isotopie-Werten zeigt keine Korrelation der zeitlichen Verläufe, weder die Extremwerte (Maximum bzw. Minimum) noch den jeweiligen zeitlichen Trend betreffend (Daten nicht dargestellt). Die Isotopiedaten deuten aufgrund der vorliegenden Differenzen auf unterschiedliche Ernährungsmuster der Silbermöwen zwischen den einzelnen Inseln hin, welche keine sprunghaften Veränderungen aufweisen. Demnach beruhen die zeitlichen Verläufe der HBCD-Gehalte auf einer gleichbleibend ähnlichen Ernährungsweise und somit auf Änderungen der HBCD-Belastung innerhalb der Nahrung bzw. in der Umwelt.

4.3.5 Vergleich der HBCD-Gehalte mit anderen Umweltkontaminanten

Silbermöwen sind, wie bereits dargelegt, u. a. aufgrund ihrer weiten Verbreitung an den Küsten von Nord- und Ostsee, sowie ihrem stabilen Vorkommen ein idealer Monitoring-Organismus für die Umweltprobenbank des Bundes [338]. Daher waren und sind die Eier der Silbermöwe Gegenstand von Untersuchungen einer Vielzahl verschiedener organischer sowie anorganischer Umweltkontaminanten wie bspw. Kupfer, Quecksilber, Blei, Arsen, Selen, Hexachlorbenzol, Octachlorstyrol, Dieldrin, diverse polychlorierte Biphenyle, Dichlordiphenyl-dichlorethen (DDE), Dichlordiphenyldichlorethan (DDD) und HCH, deren Gehalte auf der Internetseite der Umweltprobenbank des Bundes veröffentlicht sind [338]. Die in den vorherigen Kapiteln beschriebenen HBCD-Untersuchungen erfolgten an bereits auf andere Umweltkontaminanten hin untersuchten Proben der Umweltprobenbank des Bundes. Auf den hierdurch ermöglichten Vergleich der in dieser Arbeit ermittelten HBCD-Gehalte mit denen der chlorierten Kohlenwasserstoffe DDD und DDE soll im Folgenden näher eingegangen werden.

Die untersuchten Probenmaterialien von allen drei Inseln weisen bei den meisten Umweltkontaminanten einen zeitlichen Trend zu niedrigeren Belastungen auf, wobei sich die Probengehalte nur geringfügig voneinander unterscheiden. Eine Sonderstellung nehmen die beiden Organohalogenverbindungen DDD und DDE, zwei Abbauprodukte des Insektizids Dichlordiphenyltrichlorethan (DDT) ein. Die Proben der Insel Heuwiese zeigen hier deutlich höhere Belastungen als Mellum und Trischen. Darüber hinaus ist analog zu den HBCD-Gehalten auch bei DDD und DDE ein Maximum der Belastungsgehalte im Jahr 2000 (Heuwiese) deutlich zu erkennen (Abbildung 36).

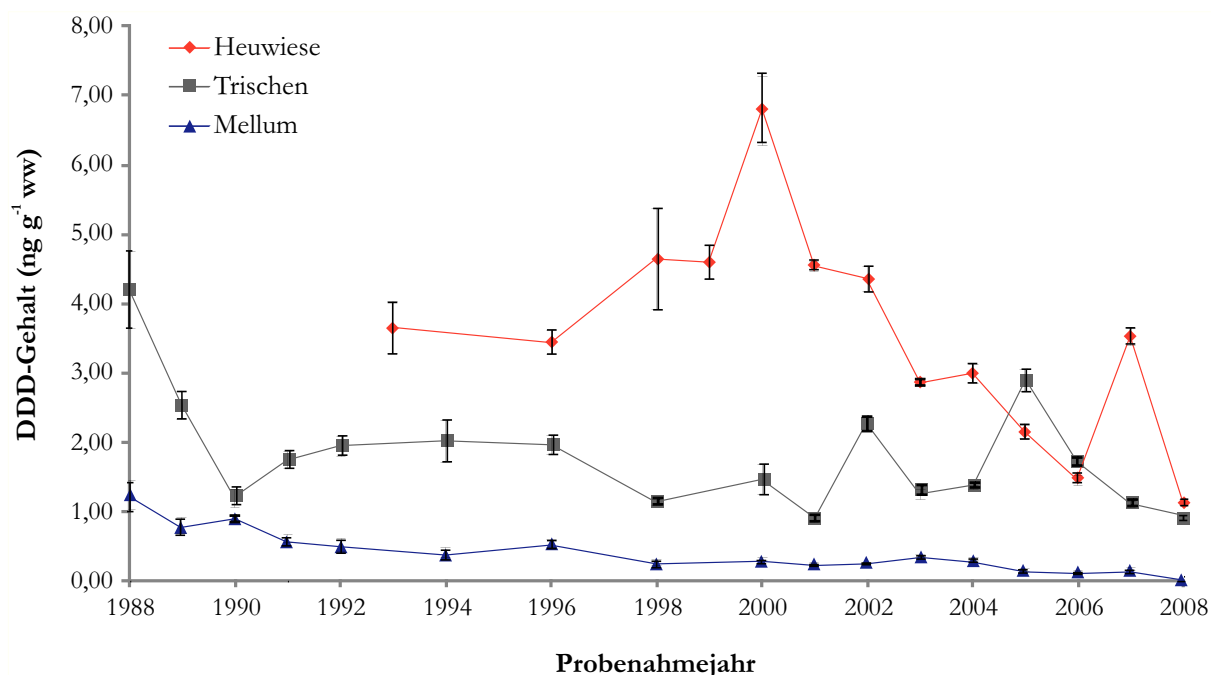


Abbildung 36: Zeitlicher Verlauf der DDD-Gehalte (ng g⁻¹ ww) in Silbermöweneiern von drei Inseln der deutschen Küste inkl. der Standardabweichung (nach [338]).

Die bisherigen Untersuchungsergebnisse stützen die Beobachtungen der eigenen HBCD-Untersuchungen, dass die Insel Heuwiese eine Sonderstellung im Hinblick auf ihr Belastungsniveau mit Umweltkontaminanten einnimmt. Eine mögliche Hypothese beruht auf der unterschiedlichen historischen Entwicklung der Inseln ab dem Jahr 1945. So gehörte die Insel Heuwiese vor der deutschen Wiedervereinigung im Jahr 1990 zum Staatsgebiet der Deutschen Demokratischen Republik (DDR). Da aus dieser Zeit nur wenige Informationen über die Emission potentieller Umweltkontaminanten vorliegen, ist eine längerfristige Einordnung der ermittelten Gehalte nur schwer durchführbar. Bekannt ist lediglich, dass in der DDR bis Ende der 1980er Jahre DDT eingesetzt wurde [339]. In Kombination mit der Tatsache, dass es im gleichen Zeitraum, nur wenige Maßnahmen zum Schutz der Umwelt hinsichtlich des

Eindringens von Sickerwasser in das Erdreich in der näheren Umgebung von Mülldeponien gab, ist es denkbar, dass neben DDT auch dessen Abbauprodukte DDD und DDE sowie weitere Umweltkontaminanten wie das HBCD weitgehend ungehindert in die Umwelt gelangten und sich dort anreichern konnten [340,341].

4.4 Enantiomerenspezifische Bestimmung von HBCD in marinen Spezies eines norwegischen Fjordes

Im Hinblick auf eine Abschätzung der Aufnahme bzw. Akkumulation lipophiler Schadstoffe (bspw. HBCD) durch den Menschen spielt der Verzehr von Fisch, insbesondere von dessen Muskel- und z. T. auch Lebergewebe eine wichtige Rolle. Darüber hinaus sind marine Spezies bezüglich ihrer HBCD-Kontaminationen sehr gut untersucht (Tabellen A4, A6, A7). Die Bandbreite an Organismen, für die Untersuchungsergebnisse vorliegen, erstreckt sich von Wirbellosen (Schnecken, Krebse und Muscheln) über eine Vielzahl von Fischarten bis hin zu Säugetieren (z. B. Wale, Delfine, Robben). Die zugehörigen Probenahmeorte befinden sich überwiegend in der nördlichen Hemisphäre, wobei die am stärksten beprobten Gebiete die norwegischen und schwedischen Küstenregionen sind. Trotz der großen Datengrundlage sind die publizierten HBCD-Gehalte in entsprechenden Fischarten sehr inkonsistent. Jenssen *et al.* berichteten bspw. von HBCD-Gehalten in Polardorsch (*Boreogadus saida*) sowie in Atlantischem Dorsch von 12 bzw. 22 ng g⁻¹ lw [68], die durch Untersuchungen von Winterflundern (*Pseudopleuronectes americanus*) bestätigt wurden (0,5-15 ng g⁻¹ lw; [83]). Studien in der näheren geographischen Umgebung einer potentiellen Emissionsquelle (Polystyrolfabrik) wiesen leicht erhöhte Gehalte im Muskelfleisch und Lebergewebe von Dorschen auf (17 bzw. 114 ng g⁻¹ lw; [175]). Die höchsten Werte stammen allerdings von Untersuchungen eines norwegischen Fjordes (Etnesfjord) [145]. Hier wurden Gehalte von bis zu 30.000 ng g⁻¹ lw im Dorschfilet ermittelt, wobei keinerlei direkte Emissionsquellen in der Nähe der Probenahme-Stellen identifiziert werden konnten. Zielstellung dieser Arbeit war es daher, eigens auf HBCD untersuchte marine Spezies aus Norwegen (Eikelfjorden) mit diesen Daten sowie anderen Literaturangaben zu vergleichen.

4.4.1 Fett- und Feuchtegehalte

In Tabelle 33 sind die Wasser-, Fett- und Feuchtegehalte (Muskel- und Lebergewebe) der untersuchten marinen Spezies vom norwegischen Eikelfjorden dargestellt. Die ermittelten Wassergehalte beruhen auf dem gravimetrisch ermittelten Wasserverlust während der Gefriertrocknung des jeweiligen Probenmaterials (n = 1), wohingegen der Restfeuchtegehalt des gefriergetrockneten Materials mittels Karl-Fischer-Titration (Kapitel 3.12.2) bestimmt wurde. Der Gesamt-Wassergehalt eines Probenmaterials entspricht somit der Summe aus Wasserverlust und Restfeuchtegehalt.

Tabelle 33: Wasser-, Fett- und Feuchtegehalte (Gew.-% ± s) vom untersuchten Lebergewebe und Muskelfleisch verschiedener mariner Spezies eines norwegischen Fjordes.

Lebergewebe	Wassergehalt ^a	Fettgehalt ^b	Feuchtegehalt ^c
Gefleckter Lippfisch (grün), LFr _{Leber}	58,24	25,44 ± 0,35	5,08 ± 0,05
Gefleckter Lippfisch (rot), LFg _{Leber}	69,52	49,34 ± 0,54	8,24 ± 0,27
Makrele, Ma _{Leber}	60,76	39,97 ± 0,49	3,47 ± 0,36
Nagelrochen, Nr _{Leber}	43,67	85,10 ± 0,89	0,451 ± 0,020
Seelachs, Sl _{Leber}	28,69	90,35 ± 0,20	0,401 ± 0,004
Wittling, W _{Leber}	32,27	96,13 ± 0,45	0,361 ± 0,010
Muskelfleisch			
Gefleckter Lippfisch (grün), LFr	75,50	9,90 ± 0,46	0,74 ± 0,02
Gefleckter Lippfisch (rot), LFg	78,66	17,79 ± 0,21	1,13 ± 0,03
Grauer Knurrhahn, K	74,82	14,06 ± 0,22	1,36 ± 0,02
Große Strandschnecke, StS	89,80	2,20 ± 0,17	2,55 ± 0,01

Muskelfleisch	Wassergehalt ^a	Fettgehalt ^b	Feuchtegehalt ^c
Makrele, Ma	57,90	43,03 ± 0,29	1,54 ± 0,04
Miesmuscheln, Mm	70,76	8,95 ± 0,26	1,55 ± 0,08
Nagelrochen, Nr	83,87	1,52 ± 0,26	1,09 ± 0,00
Seelachs, Sl	77,96	2,86 ± 0,43	1,27 ± 0,01
Wittling, W	80,72	2,73 ± 0,30	1,15 ± 0,02
Zirrenkrake, Zk	80,90	3,63 ± 0,20	1,52 ± 0,01

^a Einfachbestimmung (n = 1); ^b Daten basieren auf der gefriergetrockneten Probe (n = 4, m = 3); ^c Daten basieren auf der gefriergetrockneten Probe (n = 2)

Im Falle der Miesmuscheln und der Strandschnecken erfolgte diese Bestimmung über den gesamten Organismus (ohne Schalengehäuse). Für die einzelnen Fischarten wurde darüber hinaus das Lebergewebe getrennt untersucht. Eine Ausnahme stellt hierbei der Graue Knurrhahn (*Eutrigla gurnardus*) dar. Da hier keine ausreichende Menge an Lebergewebe vorhanden war, wurden die Untersuchungen ausschließlich am Muskelgewebe durchgeführt.

4.4.2 Ermittlung der HBCD-Enantiomeren-Gehalte

Mit Ausnahme des Lebergewebes des roten Lippfisches (*Labrus bergylta*) konnte in allen untersuchten Proben α -HBCD ermittelt werden, wobei die höchsten α -HBCD-Gehalte in Leberproben des Seelachses gefunden wurden. Insgesamt lagen die Gehalte für (-)- α -HBCD im Bereich von 0,42 bis 18,17 ng g⁻¹ lw und für (+)- α -HBCD zwischen 0,29 und 29,13 ng g⁻¹ lw. Die β -HBCD-Belastungen lagen mit 0,02-1,92 ng g⁻¹ lw deutlich niedriger und sollen daher im weiteren Verlauf nicht weiter betrachtet werden. Für γ -HBCD lagen die ermittelten Gehalte im Bereich zwischen 0,64 (Nagelrochenleber) und 32,21 ng g⁻¹ lw (Makrelenleber; Tabelle 34).

Hinsichtlich der Gesamt-HBCD-Belastung liegen die ermittelten Gehalte somit innerhalb des aus der Literatur zu entnehmenden Schwankungsbereiches für Gebiete ohne direkte HBCD-Emissionsquelle in der näheren Umgebung [68,83]. Der von Köppen *et al.* beprobte, im Südwesten Norwegens gelegene Etnesfjord [145] liegt ca. 50 km südlich des Eikelfjordes und ist ebenfalls ein Seitenarm des großen Hardangerfjordes. Beide Standorte haben darüber hinaus gemeinsam, dass sich keine größeren Industrieanlagen in ihrer unmittelbaren Nachbarschaft befinden. Allerdings unterscheiden sich die beiden Standorte bzgl. der Belastungen der verschiedenen untersuchten marinen Spezies mit HBCD z. T. sehr deutlich. So liegen die HBCD-Gehalte im Lebergewebe von Makrele, Sternrochen und Flunder des Etnesfjordes in der Summe mit 14,4, 12,3 und 4,88 ng g⁻¹ lw auf dem gleichen Kontaminationsniveau wie die im Eikelfjord untersuchten Proben, jedoch handelt es sich bei den im Etnesfjord ermittelten Gehalten im Muskelfleisch von Sternrochen, Seelachs und Dorsch mit 1.716, 1.296 und 30.316 ng g⁻¹ lw um die höchsten Gehalte, die bislang in Fischarten nachgewiesen wurden. Als Reaktion auf diese Untersuchungsergebnisse führte die norwegische Agentur für Klima und Umweltverschmutzung (*Norwegian Climate and Pollution Agency*, Klif) eine Monitoring-Studie an verschiedenen Fischarten aus dem Etnesfjord durch (Probenahmejahr: 2010) um weitere Informationen hinsichtlich der HBCD-Belastung zu erlangen [342]. In der Dorschleber wurde die HBCD-Belastung mit 1,3 bis 8,2 ng g⁻¹ lw angegeben. Hierbei konnte lediglich α -HBCD detektiert werden, die Gehalte von β - und γ -HBCD lagen unterhalb der Nachweisgrenze. Die Daten dieser beiden Monitoring-Studien können allerdings nur bedingt miteinander verglichen werden, da im Bericht der Klif die Angaben zur HBCD-Belastung im Muskelfleisch fehlen. Im Vergleich zu den HBCD-Gehalten in der Dorschleber von Köppen *et al.* [145] lagen diese etwa um Faktor drei niedriger und stimmen somit mit den im Eikelfjord ermittelten HBCD-Gehalten überein.

Grundsätzlich ist der HBCD-Gehalt eines Organismus von dessen Ernährung, einhergehend mit seiner Stellung in der jeweiligen Nahrungskette, abhängig. Darüber hinaus reichert sich das persistente HBCD im Lauf der Lebensspanne im Gewebe an, sodass mit steigendem Alter des Organismus auch dessen HBCD-Belastung zunimmt. Eine Abschätzung bzw. Erklärung der aufgetretenen Diskrepanzen zwischen den

ermittelten Gehalten gestaltet sich daher aufgrund der unvollständigen Datenlage der betreffenden Regionen als problematisch. Ergänzende Analysen des Sediments des Etnesfjordes könnten weitere wichtige Informationen bzgl. einer möglichen HBCD-Kontaminationsquelle liefern und somit zur Klärung des Unterschiedes beitragen.

Tabelle 34: Mittlere Gehalte der HBCD-Isomere ($\text{ng g}^{-1} \text{lw} \pm \text{U}$) im Muskelfleisch bzw. Lebergewebe mariner Spezies des norwegischen Eikelfandsfjordes.

Spezies ^a	$(\pm)\text{-}\alpha\text{-HBCD}$		$(\pm)\text{-}\beta\text{-HBCD}$		$(\pm)\text{-}\gamma\text{-HBCD}$	
	$(-)\text{-}\alpha\text{-}$	$(+)\text{-}\alpha\text{-}$	$(-)\text{-}\beta\text{-}$	$(+)\text{-}\beta\text{-}$	$(+)\text{-}\gamma\text{-}$	$(-)\text{-}\gamma\text{-}$
LFg	$2,13 \pm 0,25$	$2,40 \pm 0,27$	$0,09 \pm 0,02$	n. d.	$1,57 \pm 0,21$	$1,78 \pm 0,22$
LFg _{Leber}	$0,42 \pm 0,11$	$0,29 \pm 0,08$	$0,07 \pm 0,03$	$0,13 \pm 0,04$	$0,56 \pm 0,16$	$0,62 \pm 0,21$
LFr	$5,09 \pm 0,53$	$3,16 \pm 0,35$	$0,19 \pm 0,05$	n. d.	$1,03 \pm 0,18$	$1,81 \pm 0,20$
LFr _{Leber}	n. d.	n. d.	$0,06 \pm 0,04$	$0,18 \pm 0,04$	$2,51 \pm 0,35$	$5,39 \pm 1,04$
K	$4,51 \pm 0,46$	$4,68 \pm 0,46$	$0,24 \pm 0,03$	$0,19 \pm 0,06$	$2,35 \pm 0,39$	$2,01 \pm 0,20$
StS	$3,67 \pm 0,70$	$5,77 \pm 0,58$	$0,49 \pm 0,23$	$0,43 \pm 0,13$	$2,45 \pm 0,31$	$5,32 \pm 0,53$
Ma	$2,38 \pm 0,27$	$2,02 \pm 0,24$	$0,43 \pm 0,04$	$0,45 \pm 0,04$	$4,21 \pm 0,37$	$6,55 \pm 0,58$
Ma _{Leber}	$3,37 \pm 0,58$	$3,74 \pm 0,39$	$0,42 \pm 0,14$	$0,16 \pm 0,05$	$7,53 \pm 1,45$	$24,68 \pm 3,31$
Mm	$2,64 \pm 0,37$	$2,30 \pm 0,28$	$0,65 \pm 0,11$	$0,16 \pm 0,04$	$1,24 \pm 0,24$	$3,58 \pm 0,45$
Nr	$6,30 \pm 0,56$	$4,36 \pm 0,41$	$1,92 \pm 0,33$	$1,52 \pm 0,17$	$9,63 \pm 1,60$	$8,97 \pm 1,02$
Nr _{Leber}	$0,92 \pm 0,12$	$0,60 \pm 0,07$	$0,02 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,03$	$0,49 \pm 0,05$
Sl	$5,90 \pm 0,60$	$2,92 \pm 0,31$	$0,52 \pm 0,17$	$0,66 \pm 0,07$	n. d.	n. d.
Sl _{Leber}	$18,17 \pm 1,61$	$29,13 \pm 2,99$	$0,05 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,02$	$0,36 \pm 0,04$	$0,38 \pm 0,13$
W	$14,14 \pm 2,69$	$7,87 \pm 1,50$	$1,13 \pm 0,22$	$0,88 \pm 0,21$	$6,09 \pm 1,18$	$2,01 \pm 0,44$
W _{Leber}	$1,18 \pm 0,30$	$1,37 \pm 0,13$	$0,09 \pm 0,04$	$0,09 \pm 0,03$	$1,35 \pm 0,20$	$2,12 \pm 0,58$
Zk	$7,30 \pm 1,29$	$9,12 \pm 1,60$	$0,93 \pm 0,22$	$0,53 \pm 0,09$	$13,43 \pm 2,40$	$7,62 \pm 1,35$

^a Abkürzungen der Spezies sind in Tabelle 33 ersichtlich

Die Diastereomeren-Verteilung wird im Gegensatz zu den Daten der untersuchten Silbermöweneier (Kapitel 4.3.2) bei den untersuchten Fischarten nicht generell durch das $\alpha\text{-HBCD}$ dominiert. Während im Falle der Muskelfleischproben von Lippfisch (rot und grün), Knurrhahn, Seelachs (*Pollachius virens*) und Wittling $\alpha\text{-HBCD}$ eine vorherrschende Rolle spielt, verschiebt sich das Verhältnis von $\gamma\text{-}$ zu $\alpha\text{-HBCD}$ von der Strandschnecke (*Littorina littorea*) und der Zirrenkrake (*Eledone cirrhosa*) bis zum Muskelfleisch von Nagelrochen (*Raja clavata*) hin zu einem dominierenden $\gamma\text{-HBCD}$ (Abbildung 37). Die bodenorientierte Lebensweise von Nagelrochen, Strandschnecke und Zirrenkrake könnte eine Ursache für die festgestellte Verschiebung des Diastereomeren-Verhältnisses sein. Bedingt durch einen vergleichsweise stärkeren Kontakt zum jeweiligen Bodensediment, in dem das $\gamma\text{-HBCD}$ das dominante Diastereomer darstellt (Kapitel 2.7.3), besteht eine erhöhte Exposition mit $\gamma\text{-HBCD}$ einhergehend mit dessen Biokonzentration im betreffenden Organismus. Es kann geschlossen werden, dass die Daten der Makrele jedoch eine gesonderte Stellung einnehmen. Obwohl es sich um eine im Freiwasser lebende räuberische Fischart handelt, dominiert auch hier das $\gamma\text{-HBCD}$. Insbesondere das Lebergewebe fällt aufgrund eines $\gamma\text{-}$ zu $\alpha\text{-HBCD}$ -Verhältnisses von 4,5 : 1 auf. Eine vergleichbare Verschiebung des $\gamma\text{-}$ zu $\alpha\text{-HBCD}$ -Verhältnisses wurde auch bei anderen räuberischen Fischarten wie dem Polardorsch und Pazifischem Hering (*Clupea pallasii*) aus Kanada [343] und in Bullenhaien (*Carcharhinus leucas*) sowie Atlantischen Scharfnasenhaien (*Rhizoprionodon terraenovae*) der Ostküste Floridas (USA) [187] beobachtet. Als Ursache für diese Verschiebung werden unterschiedliche Expositionsquellen vermutet [343]. Im Falle der Makrele, die ebenfalls große Wegstrecken im Verlauf ihres Lebens zurücklegt, lässt sich dieser Erklärungsansatz ebenfalls verfolgen.

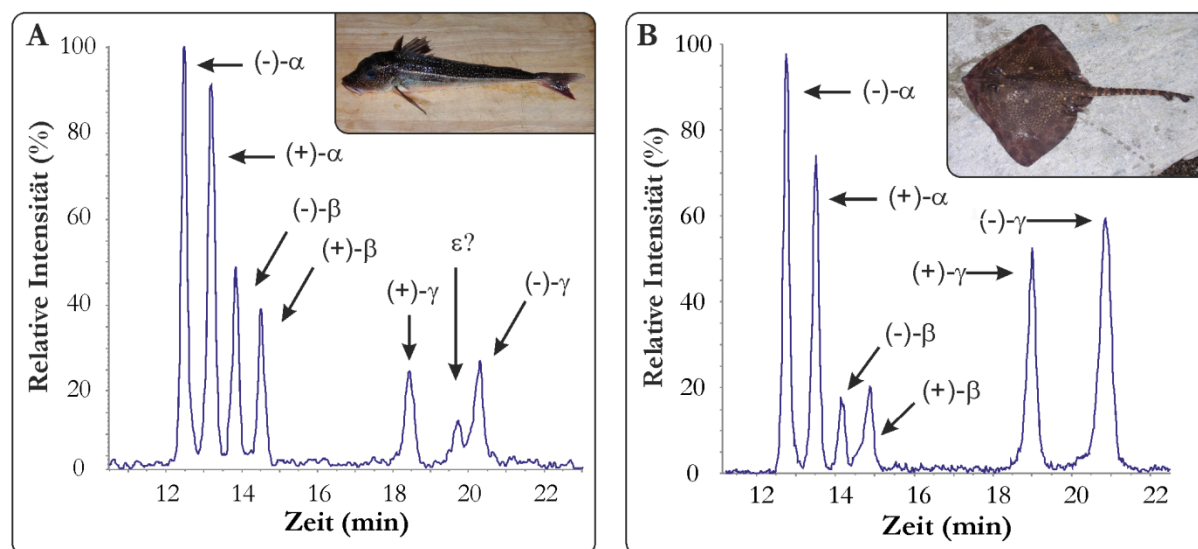


Abbildung 37: TIC zweier aufgereinigter Muskelfleisch-Extrakte vom grauen Knurrhahn (A) und Nagelrochen (B) aus dem Eikelfandsjord.

Auffallend bei der Betrachtung des Totalionenchromatogramms (HPLC-MS/MS) eines aufgereinigten Muskelfleisch-Extraktes vom grauen Knurrhahn war neben den sechs Signalen der α -, β - und γ -HBCD-Enantiomere ein weiteres Signal zwischen (+)- und (-)- γ -HBCD mit einer Retentionszeit von etwa 19,7 min zu beobachten (Abbildung 37). Ein Retentionszeitenvergleich mit anderen Veröffentlichungen auf diesem Gebiet legt die Vermutung nahe, dass es sich bei dem beobachteten Signal um ϵ -HBCD handelt [14,21], einem bei der Herstellung von technischem HBCD anfallenden Nebenprodukt (Kapitel 2.2.2). Die *meso*-Form wurde erstmals durch Heeb *et al.* im Jahr 2005 in technischem HBCD identifiziert [8]. Bedingt durch die Einsatzmengen des technischen HBCDs könnte auch diese Minorkomponente in größeren Mengen in die Umwelt freigesetzt werden. Dodder *et al.* und Janák *et al.* beobachteten im Verlauf ihrer Studien das Auftreten von insgesamt zwei zusätzlichen Signalen bei der Analyse von Biota- und Luftproben [138,344], welche allerdings aufgrund fehlender Standards nicht (eindeutig) identifiziert werden konnten. Eine, im Hinblick auf die Untersuchung der chiralen HBCD-Signatur luftgetragener Partikel, weiterführende Studie von Li *et al.* resultierte ebenfalls in der Identifizierung eines Signals, welches die gleiche Fragmentierung im MRM-Modus (m/z 640,5 \rightarrow 78,8) zeigte und zwischen (+)- und (-)- γ -HBCD eluierte. Ein Vergleich der Elution mit δ - und ϵ -HBCD-Standardlösungen zeigte jedoch keine direkte Übereinstimmung [345].

4.4.3 Chirale Signaturen der HBCD-Gehalte

Aus den in Tabelle 35 angegebenen EF-Werten mit den dazugehörigen Unsicherheitsbereichen ist deutlich zu erkennen, dass einige der ermittelten EF-Werte in den untersuchten marinen Biotaprobe aus Norwegen Abweichungen vom racemischen Wert (0,5) zeigen. Die Schwankungsbreite der Abweichungen liegt hierbei im Bereich von 11-60 %. Unter Berücksichtigung der erweiterten Messunsicherheit der EF-Werte ergibt sich bei insgesamt 18 Datenpunkten eine signifikante enantiomerenspezifische Anreicherung (fettmarkierte Daten in Tabelle 35). Im Falle des α -HBCDs deuten die EF-Werte mit Ausnahme von Strandschnecke, Zirrenkrake und Lebergewebe vom Seelachs auf eine Anreicherung von (-)- α -HBCD hin, wohingegen lediglich die Miesmuschelprobe eine signifikante Abweichung des EF_{β} -Wertes vom racemischen Wert aufweisen. Eine entsprechende Anreicherung von (-)- α - und (-)- β -HBCD wird durch die verfügbare Literatur gestützt [54,63,91,95,96,138,145]. Berücksichtigt man zur Erklärung dieser Tendenzen die Elutionsreihenfolge der HBCD-Enantiomere auf der chiralen β -PM-Cyclodextrin-Phase, so zeigt sich, dass es sich in jedem Fall um (-)- α - und (-)- β -HBCD, das jeweils von der HPLC-Säule zuerst eluierende der beiden Enantiomere, handelt. Ursache hierfür könnten speziesabhängige enantiomerenspezifische Prozesse bzw. Wechselwirkungen im Rahmen der Metabolisierung sein. Im Gegensatz dazu

deuten die EF_{γ} -Werte mit Ausnahme der Werte für Wittling und Zirrenkrake auf eine Anreicherung des zweitauferenden (-)- γ -HBCD hin. Eine solche Anreicherung konnte ebenfalls schon in räuberisch lebenden Vögeln nachgewiesen werden [94,141] und könnte auf speziesabhängige isomerenspezifische Adsorptions-, Exkretions- oder Metabolisierungsprozesse zurückgeführt werden.

Tabelle 35: Werte der Enantiomerenfraktionen (\pm U) der marinen Spezies aus dem Eikelandsfjord.

Spezies ^c	EF_{α}	$U(EF_{\alpha})$	EF_{β}	$U(EF_{\beta})$	EF_{γ}	$U(EF_{\gamma})$
LFg	0,530	0,465-0,535	-- ^b	--	0,469	0,441-0,559
LFg _{Leber}	0,407^a	0,429-0,571	0,653	0,101-0,899	0,473	0,380-0,620
LFr	0,383^a	0,463-0,537	-- ^b	--	0,364^a	0,394-0,606
LFr _{Leber}	-- ^b	--	0,737	0,187-0,813	0,318	0,247-0,753
K	0,509	0,465-0,535	0,440	0,260-0,740	0,539	0,401-0,559
StS	0,611^a	0,405-0,595	0,466	0,194-0,806	0,315^a	0,424-0,576
Ma	0,459	0,429-0,571	0,512	0,470-0,530	0,391^a	0,474-0,526
Ma _{Leber}	0,526	0,416-0,584	0,288	0,233-0,767	0,234^a	0,369-0,631
Mm	0,466	0,448-0,552	0,199^a	0,342-0,658	0,257^a	0,386-0,614
Nr	0,409^a	0,461-0,539	0,442	0,407-0,593	0,516	0,390-0,610
Nr _{Leber}	0,394^a	0,470-0,530	0,714	0,151-0,849	0,231^a	0,386-0,614
Sl	0,332^a	0,444-0,556	0,558	0,335-0,665	-- ^b	--
Sl _{Leber}	0,616^a	0,452-0,548	0,356	0,006-0,994	0,489	0,334-0,666
W	0,357^a	0,466-0,534	0,438	0,393-0,607	0,748^a	0,433-0,539
W _{Leber}	0,538	0,337-0,623	0,481	0,201-0,779	0,388	0,342-0,658
Zk	0,556^a	0,468-0,532	0,363	0,414-0,586	0,638^a	0,461-0,539

^a EF -Wert ist signifikant von 0,5 verschieden; ^b EF -Wert konnte nicht berechnet werden; ^c Abkürzungen der Spezies sind in Tabelle 33 ersichtlich

4.4.4 Korrelation der $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte mit den jeweiligen HBCD-Gehalten

Die Ergebnisse der Stabil-Isotopen-Analyse der Elemente Kohlenstoff und Stickstoff sind in Tabelle B4 zusammengestellt. Hierbei beträgt die erweiterte Messunsicherheit für die ermittelten $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte 1,0 bzw. 0,2 ‰. Mit Hilfe der graphischen Korrelation der Stickstoff- und Kohlenstoff-Isotopen lässt sich die relative Stellung der untersuchten Spezies in der Nahrungskette ermitteln (Abbildung 38). Je positiver der $\delta^{15}\text{N}$ - und je negativer der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert ist, desto höher ist das trophische Niveau der betreffenden Fischart. Allerdings handelt es sich beim zu bewertenden Probenpool, mit Ausnahme von Miesmuschel und Strandschnecke, um räuberische Spezies, die sich nur marginal in ihrem trophischen Niveau unterscheiden.

Um eine erschöpfende Beurteilung der jeweiligen Nahrungskette zu leisten, wären neben Wasser- und Sedimentproben auch weitere Organismen der unteren Bereiche der jeweiligen Nahrungskette (Plankton, kleinere Fische) erforderlich, die für diese Arbeit nicht zur Verfügung standen. Aus der graphischen Korrelation der $\delta^{15}\text{N}$ - mit den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten (Abbildung 38) ist ersichtlich, dass die Miesmuscheln und Strandschnecken aufgrund ihrer deutlich negativeren $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von 4,85 bzw. 5,95 ‰ erwartungsgemäß einem niedrigen trophischen Niveau zuzuordnen sind. Im Vergleich hierzu nehmen die beiden bodenbewohnenden Räuber Nagelrochen und Zirrenkrake, welche sich überwiegend von Muscheln, Stachelhäutern, Mollusken, Würmern, Krabben und Kleinfischen ernähren, eine Sonderstellung ein. Die Makrele, ein räuberischer Schwarmfisch, ernährt sich hauptsächlich von Plankton sowie der Fischbrut von Heringen, Sprotten und Dorschen. In Relation zu den übrigen räuberischen Freiwasser-Fischarten deuten diese Nahrungsquellen auf ein geringeres trophisches Niveau hin. Bei vergleichender Betrachtung der ermittelten EF -Werte der von Köppen *et al.* untersuchten Fischarten des Etnesfjordes [14] zeigt sich, dass auch bei diesen Untersuchungen die Makrele, neben den bodenbewohnenden Spezies, eine Sonder-

stellung auf einem niedrigeren trophischen Niveau in Relation zu den übrigen untersuchten Fischarten einnimmt.

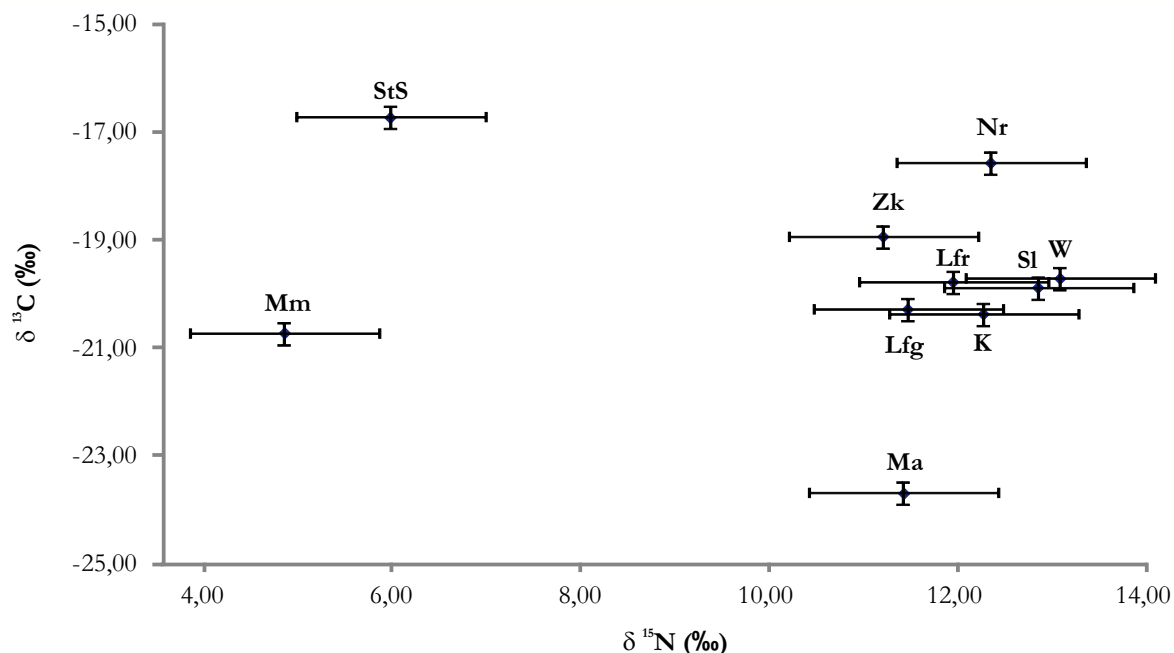


Abbildung 38: Auftragung der $\delta^{13}\text{C}$ - gegen die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte (‰) der jeweiligen marinen Spezies des norwegischen Eikelfjordes mit Angabe der erweiterten Messunsicherheit. Die verwendeten Abkürzungen der Spezies sind in Tabelle 33 angegeben.

Die Korrelation der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte mit den ermittelten (-)- α - und (+)- γ -HBCD-Enantiomeren-Gehalten der norwegischen Fischproben (Abbildung 39) bestätigt zunächst die deutliche Separierung der Miesmuschel- und Strandschneckenproben sowohl aufgrund ihrer negativeren $\delta^{15}\text{N}$ -Werte als auch wegen der niedrigen HBCD-Belastung. Die Korrelation der HBCD-Gehalte mit den Isotopiedaten der Untersuchungen von Köppen *et al.* [14,145] wiesen einen exponentiellen Zusammenhang zwischen den HBCD-Enantiomeren-Gehalten und den zugehörigen Werten für die Stickstoff-Isotopie auf, welcher durch die Untersuchungen der Proben des Eikelfjordes jedoch nicht nachvollzogen werden kann. Dennoch ähneln sich die Daten insoweit, als dass insbesondere im Falle der Korrelation mit γ -HBCD, eine Abtrennung der bodenorientierten Spezies Nagelrochen und Zirrenkrake zu erkennen ist. Wie bereits erwähnt, beruht diese Sonderstellung auf dem deutlich stärkeren Kontakt dieser Spezies mit den Sedimenten, wodurch in verstärktem Maße die Biokonzentration des im Sediment dominierenden γ -HBCDs an Bedeutung gewinnt. Darüber hinaus ernähren sich diese Spezies vorwiegend von am Boden lebenden Kleintieren, welche ebenfalls stärker mit γ -HBCD exponiert sind [14]. Schlussfolgernd können die erhaltenen Daten mit den Lebensräumen und Ernährungsmustern der jeweiligen untersuchten Spezies erklärt werden und finden durch die Daten der untersuchten Fischarten des nahe gelegenen Etnesfjordes [14] Bestätigung.

4.4.5 Statistische Korrelation der untersuchten Monitoringdaten

Multivariate Methoden werden immer häufiger für die Auswertung großer chemisch-analytischer Datensätze eingesetzt, um etwaige Muster in den Daten zu identifizieren und anschließend auf deren Grundlage die Probenmaterialien zu klassifizieren bzw. einzuordnen. Ein in diesem Zusammenhang weit verbreitetes statistisches Verfahren ist die sogenannte Hauptkomponentenanalyse (*Principal Component Analysis*, PCA). Bei der PCA werden aus den ermittelten Ausgangsdaten neue latente Variablen (Hauptkomponenten) errechnet, welche in den neuen Faktorenraum (Koordinaten im Faktorenraum: *Scores*) entlang ihrer größten Variation transformiert werden. Hierbei werden die eingesetzten Ausgangsdaten zu wenigen Hauptkomponenten zusammengefasst, welche das statistische Modell beschreiben [346].

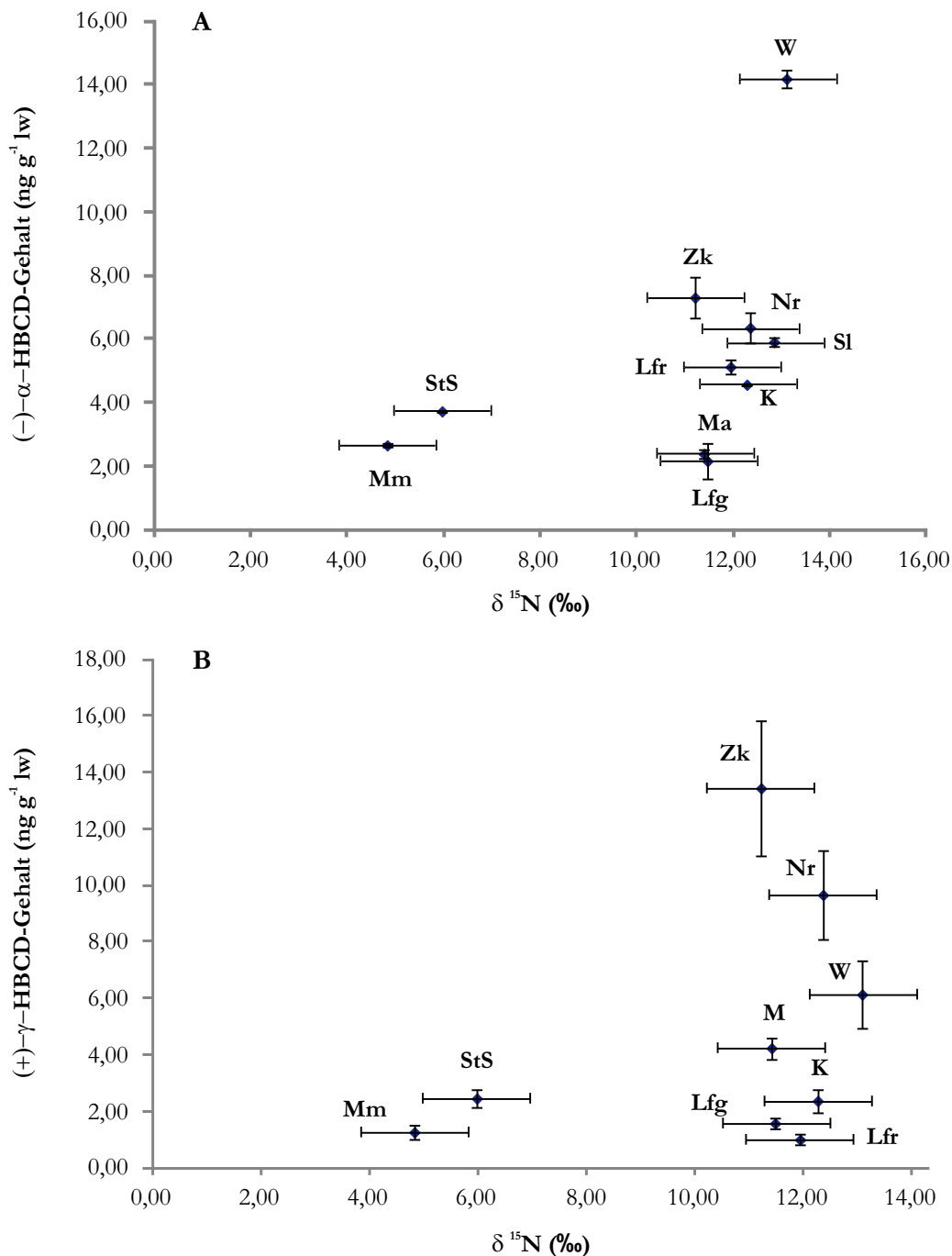


Abbildung 39: Graphische Korrelation der $\delta^{15}\text{N}$ -Daten (‰) mit den (-)- α -HBCD- (A) und (+)- γ -HBCD- (B) Gehalten (ng g⁻¹ lw \pm U) der untersuchten marinen Spezies (Eikelandsfjord, Norwegen). verwendeten Abkürzungen der Spezies sind in Tabelle 33 angegeben.

Zur Korrelation wurden die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Monitoringdaten von analysierten Möweneiern sowie untersuchten marinen Spezies aus Norwegen verwendet. Im Speziellen wurden die Mittelwerte der Isotopen ($\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{15}\text{N}$) als auch sämtliche HBCD-Gehalte (ng g⁻¹ lw) zur Erstellung des statistischen Modells eingesetzt. Aufgrund der unterschiedlichen Untersuchungsverfahren (Stabil-Isotopen- und HBCD-Analytik) besitzen die Daten, welche die Basis zur Berechnung der PCA bilden, unterschiedliche Varianzen. So zeigen bspw. die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im Gegensatz zu den HBCD-Daten oder den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten eine deutlich kleinere Varianz. Um die Gewichtung der Daten derart zu verschieben, dass alle Variablen gleichermaßen in die PCA einbezogen werden, war es nötig, die Messwerte zu standardisieren. Zu diesem Zweck wurden die Mittelwerte und die Standardabweichung jeder Variable (z. B. $\delta^{15}\text{N}$ -Daten) ermittelt und eine Mittenzentrierung (von jedem Messwert der Variablen wird der

entsprechende Mittelwert abgezogen) durchgeführt und anschließend durch die Standardabweichung dividiert. Die resultierenden standardisierten Daten wurden anschließend einer PCA (The Unscrambler X®, Camo, Oslo/Norwegen) unter Erhalt des in Abbildung 40 gezeigten Scores-Plots, zugeführt.

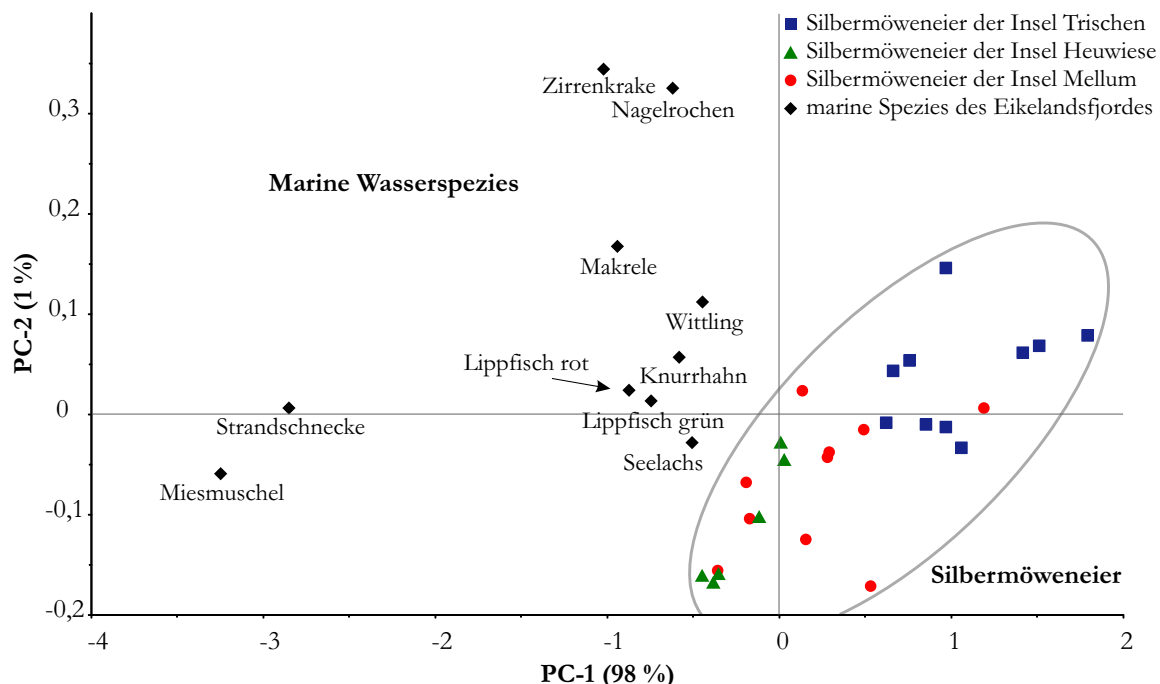


Abbildung 40: Scores-Plot der *Principal Component Analysis* (PCA) über die Isotopiedaten sowie die α -, β - und γ -HBCD-Gehalte ($\text{ng g}^{-1} \text{ lw}$) mariner Spezies aus dem Eikelfandsfjord (Norwegen).

Die ersten beiden Hauptkomponenten (*Principal Components*, PCs) erklären zusammen 99 % der Varianz der Daten. Bei Betrachtung des Plots wird deutlich, dass sich die Daten in vier Gruppen aufteilen lassen. In der linken Hälfte der PC-1-Achse finden sich die Proben der Miesmuscheln und Strandschnecken wieder, die Repräsentanten eines niedrigen trophischen Niveaus sind und somit zu Recht von den restlichen Proben getrennt dargestellt werden. Die zweite Gruppe spiegelt die Daten der Möweneiprobe (Kapitel 4.3) wider und ist im Scores-Plot farblich hervorgehoben. Während interessanterweise die Daten der Silbermöweneier der Insel Trischen im ersten und vierten Quadranten liegen, verteilen sich die restlichen Möweneiprobe überwiegend innerhalb des dritten und des vierten Quadranten. Ein Grund für diese Separierung/Isolierung der Trischenproben liegt, wie bereits erwähnt, möglicherweise im unterschiedlichen Ernährungsmuster der Tiere dieser Insel im Vergleich zu den Tieren der anderen Inseln. Die dritte Gruppe befindet sich im oberen Drittel des zweiten Quadranten. Hierbei handelt es sich um die bereits im vorangegangenen Kapitel diskutierten eher bodenbewohnenden marinen Spezies Nagelrochen und Zirrenkrake, welche sich sowohl aufgrund ihrer höheren γ -HBCD-Gehalte als auch wegen der niedrigeren $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von den restlichen marinen Spezies unterscheiden, die sich wiederum in der Mitte des Plots (zwischen dem zweiten und dritten Quadranten) befinden. Anhand der sog. *Loadings*-Werte kann abschließend ermittelt werden, welche Variablen (statistische Analysenparameter) den größten Einfluss auf das statistische Modell ausüben (Abbildung 41). Im vorliegenden Fall basiert die Auftrennung der Proben über die erste PC hauptsächlich auf den $\delta^{15}\text{N}$ -Daten. Über die zweite PC überwiegen dagegen die Einflüsse der $\delta^{13}\text{C}$ -Daten und der γ -HBCD-Gehalte.

Es kann somit zusammenfassend festgestellt werden, dass sich die Beobachtungen aus dem vorangegangenen Kapitel in der PCA widerspiegeln und auch hier eine Unterscheidung zwischen den bodenbewohnenden Muscheln und Schnecken sowie den Raubfischen durchgeführt werden kann. Bedingt durch die zugrundeliegende nicht repräsentative Datenmenge stellen die ermittelten Ergebnisse nur erste Anhaltspunkte dar. Dennoch erwies sich dieses Modell zur Differenzierung der untersuchten marinen Proben als sehr gut geeignet.

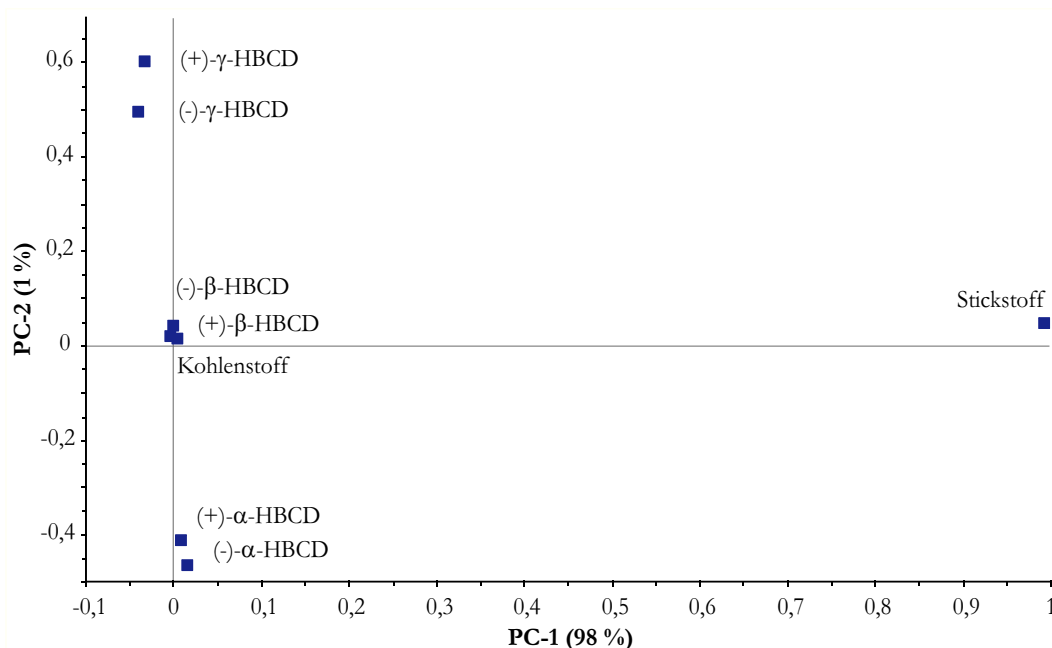


Abbildung 41: PCA-Loadings-Plot über die erste und zweite Hauptkomponente der Isotopiedaten und der HBCD-Gehalte (ng g^{-1} lw) mariner Spezies aus dem Eikelandsfjord (Norwegen).

4.5 Untersuchungen zur enantiomerenspezifischen Akkumulation und Bioisomerisierung von HBCD mittels Fütterungsversuchen

Wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln aufgezeigt und erläutert wurde, dominiert α -HBCD in Biotaprobe die Diastereomeren-Verteilung, wobei das auftretende Isomerenmuster weitgehend mit dem von thermisch behandeltem HBCD übereinstimmt [134,138,142,178]. Unlängst wurde von enantiomerenspezifischen Anreicherungen von (-)- α -, (-)- β -, und (+)- γ -HBCD in Biota berichtet, welche unter Verwendung einer chiralen β -Cyclodextrinphase in der HPLC die jeweiligen erstelnden Enantiomere darstellen [94,97,138,141,145,189,347]. Ähnliches konnte auch im Rahmen der Untersuchungen an Silbermöweneiern sowie marinen Spezies beobachtet werden (Kapitel 4.3 und 4.4).

Die Interkonvertierung von γ - zu α -HBCD unter thermischer Belastung, als auch die diastereomeren-spezifische Anreicherung von α -HBCD in Biota, geben Anlass zu der Frage, ob diese Beobachtungen zumindest teilweise auf eine entsprechende Isomerisierung unter physiologischen Bedingungen zurückzuführen ist. Allerdings sind die in bisher publizierten Fütterungsstudien ermittelten Resultate widersprüchlich. Die Ergebnisse einer Expositionsstudie an Mäusen legt bspw. die Vermutung nahe, dass γ -HBCD in Leber und Gehirn einer Isomerisierung zu β -HBCD und in Fettgewebe und Fäkalien zu α - und β -HBCD unterliegt [328]. Im Gegensatz dazu wurde die Bioisomerisierung von γ - zu α -HBCD bereits in Regenbogenforellen nach vorheriger Fütterung mit isolierten α -, β - und γ -HBCD-Diastereomeren postuliert [135]. Eine Exposition mit (\pm)- γ -HBCD führte demnach zu einer Bildung von (\pm)- α -HBCD. Allerdings erschwerten die hohen α -HBCD-Hintergrundbelastungen der Fische die Interpretation dieser Analysenergebnisse. Um einen eindeutigen Hinweis auf eine enantiomerenspezifische Akkumulation von (\pm)- γ -HBCD, einhergehend mit einer entsprechenden Bioisomerisierung zum jeweiligen (\pm)- α -HBCD zu erhalten, wurden in der nachfolgend vorgestellten Studie Spiegelkarpfen über die Nahrung mit enantiomerenreinem (+)- bzw. (-)- γ -HBCD exponiert.

Der Spiegelkarpfen wird aufgrund seiner schnellen Wachstumsrate und hohen Futtermittelverwertung häufig kultiviert und ist daher als Besatzfisch in den Flüssen und Seen Europas weit verbreitet. Gründe für seinen Einsatz im Rahmen dieser Fütterungsstudie waren die unkomplizierte Handhabung in geschlossenen aquatischen Kreislaufsystemen, die gute Nahrungsakzeptanz sowie die hohen Wachstumsraten. Die Fütterungsmenge sowie die Dauer des Fütterungsversuches wurden gemäß den in der Literatur

beschriebenen Erfahrungswerten abgeschätzt [135]. Grundgedanke des Einsatzes von enantiomerenreinem (\pm)- γ -HBCD war, den im Falle einer Bioisomerisierung deutlich zu beobachtenden Anstieg des jeweiligen α -HBCD-Enantiomers nachweisen zu können und somit die Hypothese der Bioisomerisierung zu bestätigen (vgl. Abbildungen 5 und 6). Darüber hinaus sollte durch die Verwendung reiner Enantiomere gewährleistet werden, dass selbst geringe Isomerisierungsraten durch Ermittlung der EF-Werte im Rahmen dieses *in vivo*-Experimentes beobachtet werden können.

4.5.1 Entwicklung der Fisch-Population

Die fachgerechte Versorgung der Tiere erfolgte am Institut für Binnenfischerei e. V. Potsdam-Sacrow und umfasste die/den tägliche(n)

- bedarfsgerechte Fütterung,
- Beobachtung und Protokollierung der Fischgesundheit, ggf. des Verlustgeschehens,
- Erfassung, Einstellung der Optimalbereiche und Protokollierung der Wasserparameter Temperatur, Sauerstoffgehalt und pH-Wert,
- Austausch von ca. 10 % des Zirkulationswassers durch Frischwasser zum Austrag des sich in standardmäßig geschlossenen Kreislaufanlagen anreichernden Nitrats,
- Reinigungsarbeiten

sowie die wöchentliche Dokumentation der Gehalte an Ammonium, Nitrit und Nitrat.

Im Ergebnis hatte die Fütterung der Spiegelkarpfen mit reinem (+)- γ - bzw. (-)- γ -HBCD über die gesamte Studienlaufzeit hinweg keinen Einfluss auf die Entwicklung/Sterblichkeit (ein Tier der (-)- γ -HBCD-Gruppe starb an Versuchstag 77) der Versuchstiere. Wie die Zusammenstellung der Wasser- und Fettgehalte in Tabelle 36 zeigt, sind keine signifikanten Unterschiede zwischen diesen Werten innerhalb der drei Versuchs-Gruppen (Kontrollgruppe, (+)- γ und (-)- γ -HBCD-Fütterungsgruppe) zu erkennen.

Tabelle 36: Mittlere Wasser- und Fettgehalte (Gew.-% \pm s) des Muskel- und Lebergewebes der untersuchten Spiegelkarpfen (n = 7).

	Wassergehalt		Fettgehalt ^a	
	Muskelfleisch	Lebergewebe	Muskelfleisch	Lebergewebe
Kontrollgruppe	77,60 \pm 0,83	76,19 \pm 1,40	13,26 \pm 2,15	6,68 \pm 1,14
(-)- γ -HBCD-Gruppe	77,52 \pm 0,62	77,01 \pm 1,40	13,79 \pm 2,11	7,01 \pm 1,67
(+)- γ -HBCD-Gruppe	77,42 \pm 0,54	77,65 \pm 1,62	13,70 \pm 1,70	8,04 \pm 1,90

^a bezogen auf die gefriergetrocknete Matrix

Hierbei ist zu beachten, dass sich der angegebene Wassergehalt auf den Gewichtsverlust im Rahmen der Gefriertrocknung der Materialien bezieht. Der Fettgehalt wurde hingegen im gefriergetrockneten Material ermittelt. Entsprechend dem Bundeslebensmittelschlüssel liegt der Wassergehalt bei karpfenartigen Spezies bei ca. 76 Gew.-% und der Fettgehalt bei 4,8 Gew.-% [348]. Unter Rückrechnung des Frischgewichtes der Versuchstiere liegt der mittlere Fettgehalt bei etwa 4,3 Gew.-% und somit genauso wie der mittlere Wassergehalt von etwa 77,5 Gew.-% im angegebenen Bereich. Der Fettgehalt des zur Fütterung verwendeten Fischfutters liegt bei (16,9 \pm 1,0) Gew.-% und entspricht somit unter Berücksichtigung der Standardabweichung sehr gut mit den vom Hersteller angegebenen Nährwert-Angaben von 17 % (Tabelle 8) überein. Die täglich bzw. wöchentlich ermittelten Wasserparameter zeigten im Verlauf der Studie keinerlei Auffälligkeiten und schwankten technisch bedingt innerhalb des optimalen Bereiches für die Karpfenhaltung. In Abbildung 42 sind die zeitlichen Verläufe von Wassertemperatur und pH-Wert zusammengestellt. Die Wassertemperatur schwankte im Verlauf der Studie zwischen 19,0 und 24,7 °C und der pH-Wert variierte im Bereich zwischen 5,5 und 7,6. Neben diesen beiden Parametern wurden auch der Nitrat- (362 \pm 168) mg L⁻¹, Nitrit- (1,26 \pm 1,20) mg L⁻¹ und Ammonium-Gehalt (0,41 \pm 0,47) mg L⁻¹ des

Beckenwassers wöchentlich ermittelt. Die Konzentrationen der beiden zuletzt genannten Parameter wurden durch die nitrifizierenden Bakterien in den Biofiltern auf einem niedrigen Niveau gehalten. Eine Denitrifikation ist in Wasserkreislaufanlagen für die intensive Fischhaltung aufgrund der stets aeroben Verhältnisse nur mit einem sehr hohen Aufwand durchzuführen. Zur Vermeidung einer übermäßigen Anreicherung von Nitrat im Wasser der Haltebecken wurden daher in Abständen von drei bis sechs Tagen Teilwasserwechsel (30 bis 60 L entspricht 3,75 bis 7,5 %) vorgenommen.

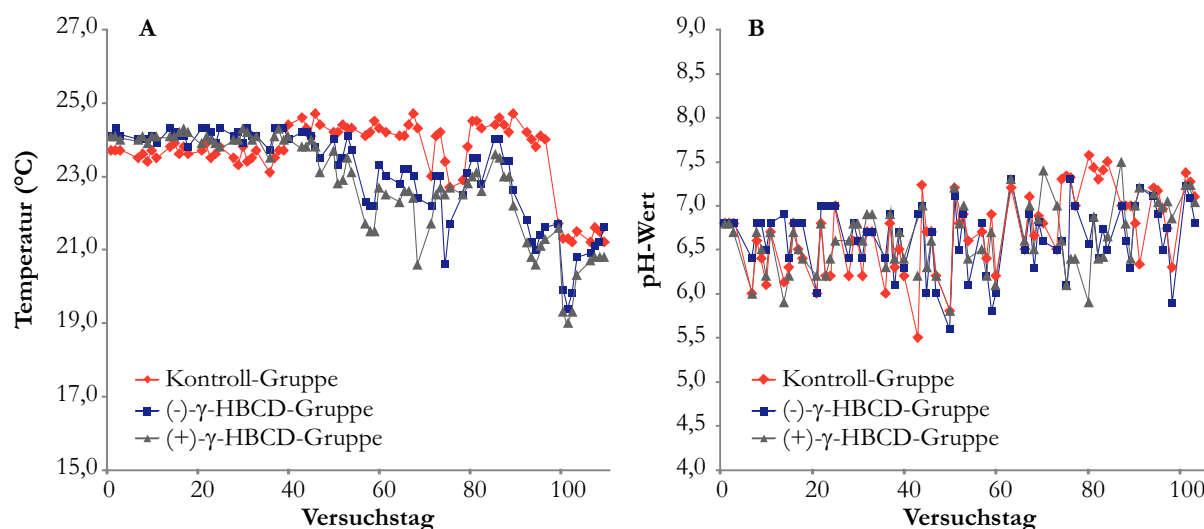


Abbildung 42: Zeitliche Entwicklung von Temperatur (A) und pH-Wert (B) des jeweiligen Beckenwassers der drei Untersuchungsgruppen (Kontroll-, (-)-γ- und (+)-γ-HBCD-Fütterungsgruppe).

Die Gewichtszunahme der Tiere wurde mit Hilfe der spezifischen Wachstumsrate (SWR), welche die durchschnittliche Stückmassezunahme in Gew.-% pro Tag während des Betrachtungszeitraumes t beschreibt, gemäß der in der Literatur beschriebenen Gleichung 11 ermittelt (Tabelle 37; [349,350]). Für alle drei Versuchsgruppen konnten mit 1,28 (Kontrollgruppe), 1,32 ((+)-γ-HBCD-Gruppe) bzw. 1,38 Gew.-% Tag⁻¹ ((-)-γ-HBCD-Gruppe) ähnliche mittlere spezifische Wachstumsraten beobachtet werden, wobei die ermittelten Futterumsatzraten zwischen 1,13 und 1,16 kg Lebensmittel (kg Zuwachs)⁻¹ lagen. Die zeitliche Entwicklung des Fisch-Wachstums kann des Weiteren durch die auf den Versuchsbeginn ($t = 0$) bezogenen relativen Wachstumsraten (WR) sowie die mittleren Gewichtszunahmen (GZ) der Fische zwischen den Probenahmezeitpunkten beschrieben werden.

$$SWR = \frac{\ln(W_f) - \ln(W_i)}{t} \cdot 100 \quad (11)$$

$\ln(W_f)$: natürlicher Logarithmus des Gewichts der Versuchstiere am Probenahmetag t

$\ln(W_i)$: natürlicher Logarithmus des Anfangsgewichts der Versuchstiere

t : Versuchsdauer in Tagen (Differenz zwischen Versuchstag 0 und dem Probenahmezeitpunkt)

Tabelle 37: Spezifische Wachstumsrate (SWR), relative Wachstumsrate (WR) und mittlere Gewichtszunahme (GZ) für die drei Spiegelkarpfen-Versuchsgruppen während der Fütterungsperiode.

Wachstumsparameter/ Fütterungsgruppe	Versuchstag						
	14.	28.	42.	56.	73.	90.	107.
(+)-γ-HBCD							
SWR (Gew.-% Tag ⁻¹)	0,665	1,40	1,48	1,37	1,43	1,36	1,30
WR (%)	109	148	186	215	284	339	401
GZ (g)	8,00	31,4	31,5	23,7	56,4	45,3	50,9

Wachstumsparameter/ Fütterungsgruppe	Versuchstag						
	14.	28.	42.	56.	73.	90.	107.
(-)-γ-HBCD							
SWR (Gew.-% Tag ⁻¹)	0,665	1,35	1,57	1,45	1,30	1,51	1,33
WR (%)	109	146	193	226	258	390	417
GZ (g)	8,00	29,6	38,8	26,7	26,4	108	22,2
Kontrollgruppe							
SWR (Gew.-% Tag ⁻¹)	0,665	1,68	1,36	1,40	1,55	1,28	1,20
WR (%)	109	160	177	219	311	316	360
GZ (g)	8,00	41,1	14,2	34,4	75,1	4,33	35,9

4.5.2 Bioakkumulation und Bioisomerisierung

Parallel zu der durchgeführten Fütterungsperiode wurde die jeweilige Versuchsgruppe auf ihre enantiomeren-spezifischen HBCD-Gehalte hin untersucht. Bereits nach einer zweiwöchigen Fütterung mit enantiomerenreinem γ -HBCD konnten in beiden betreffenden Versuchsgruppen Anreicherungen des jeweiligen γ -HBCD-Enantiomers beobachtet werden. Abbildung 43 zeigt die Anreicherung von (-)- γ -HBCD in der entsprechenden Untersuchungsgruppe am Beispiel eines HPLC-MS/MS-Chromatogramms eines aufgereinigten Muskelfleisch-Extraktes am 107. Versuchstag.

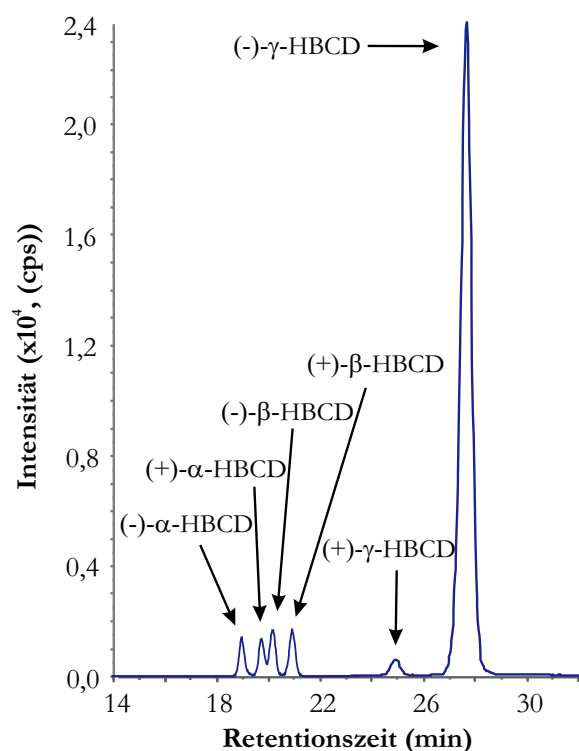


Abbildung 43: TIC eines aufgereinigten Karpfenfilet-Extraktes der (-)- γ -HBCD-Fütterungsgruppe vom 107. Versuchstag.

Trotz dieser relativ schnellen Akkumulation von HBCD in den Spiegelkarpfen wurde im Verlauf der gesamten Studie kein stabiles HBCD-Gehaltsniveau (*steady-state*) erreicht. Neben der signifikanten Anreicherung von (-)- γ -HBCD sind in dem dargestellten HPLC-MS/MS-Chromatogramm auch Spuren der anderen fünf Haupt-HBCD-Isomere zu erkennen. Ursache hierfür ist sowohl eine Kontamination des kommerziell erworbenen Fischfutters, als auch eine aufgetretene Hintergrundbelastung der Versuchstiere zu Beginn der Exposition. Der Ursprung dieser Belastung konnte nicht abschließend geklärt werden. Es besteht die Vermutung, dass die Versuchstiere bereits im Rahmen der Aufzucht und somit vor dem Erwerb einer Exposition unterlagen. Da die Tiere bis zu ihrem Verkauf in Fischteichen ohne eine zusätzliche Fütterung gehalten wurden, besteht der Verdacht, dass der Teich-Grund möglicherweise bereits mit HBCD belastet war und die Tiere durch die Nahrungssuche (Gründeln) im Teich-Grund das

HBCD aufnehmen und akkumulierten. Eine negative Beeinflussung der Aussagefähigkeit der Analysenwerte durch diese Hintergrundbelastungen kann jedoch aufgrund der geringen Gehalte (α -HBCD: maximal $0,035 \mu\text{mol}$) ausgeschlossen werden. Da die Untersuchungen des Leber- und Muskelgewebes zu übereinstimmenden Resultaten führten, fokussiert sich die weitere Auswertung und Diskussion dieser Studie auf die Daten und Ergebnisse der Muskelgewebe-Untersuchungen. Aus Abbildung 44 ist die zeitliche Entwicklung der γ -HBCD-Enantiomer- sowie der $(-)\alpha$ -HBCD-Gehalte der beiden Fütterungsgruppen ersichtlich.

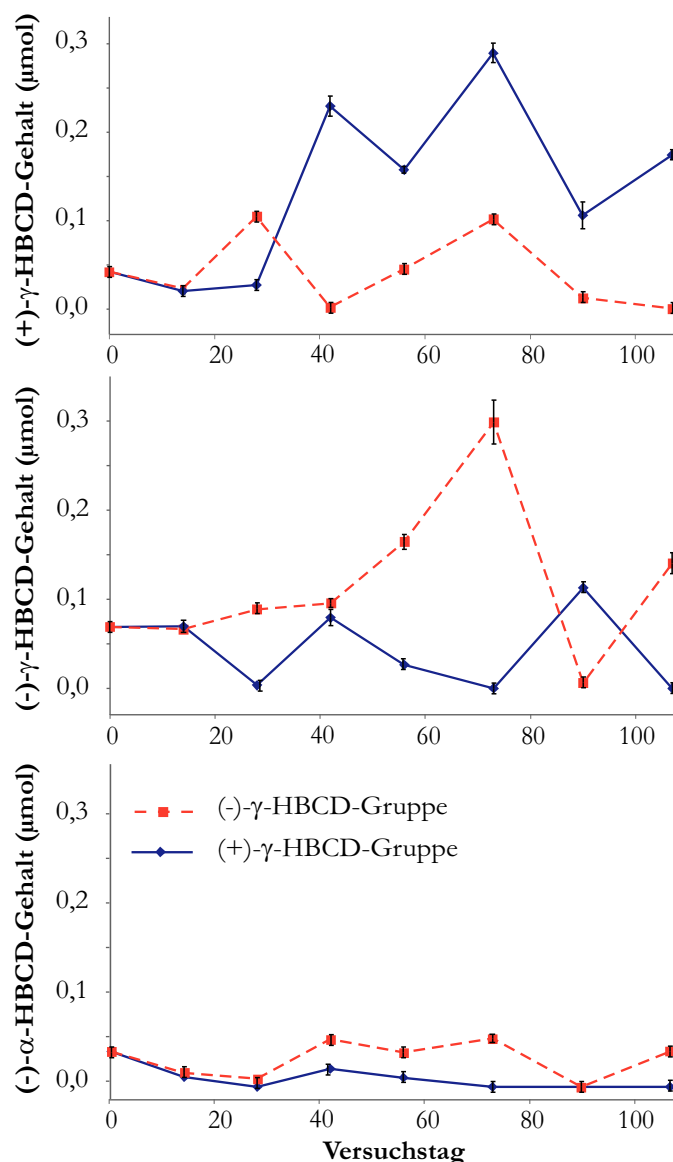


Abbildung 44: Entwicklung der Absolutgehalte (\pm U) ausgewählter HBCD-Stereoisomere in aufgereinigten Muskelfleisch-Extrakten der Fütterungsgruppen während der Fütterungsperiode ($n = 4$).

Die ermittelten Gehalte der Kontrollgruppe wurden hierbei bereits berücksichtigt und herausgerechnet. Darüber hinaus wurde die Wachstumsrate der Versuchstiere in Form eines Korrekturfaktors ebenfalls eingerechnet. Bei den Fütterungsgruppen ist innerhalb der ersten beiden Probenahmepunkte (Zeitraum: 14 Tage) unter Berücksichtigung der vorliegenden Hintergrundbelastungen zunächst keine Änderung der HBCD-Isomeren-Gehalte feststellbar. Erst ab dem dritten Probenahmepunkt beginnen die Gehalte der γ -HBCD-Enantiomere in der jeweiligen Fütterungsgruppe anzusteigen, bis es ab dem 73. Versuchstag trotz konstanter Fütterung zu einer Abnahme der Gehalte kommt. Da während des beobachteten Absinkens der γ -HBCD-Gehalte die Gehalte an $(\pm)\alpha$ -HBCD konstant blieben, ist das Auftreten einer Bioisomeri-

sierung auszuschließen. Stattdessen könnten mögliche Stoffwechsel- oder Ausscheidungsprozesse als Ursache in Betracht gezogen werden. Ähnliche Beobachtungen wurden auch von Law *et al.* in ihrer auf der Exposition von Regenbogenforellen mit isolierten α -, β - und γ -HBCD-Diastereomeren basierenden Studie beschrieben [135]. Im Anschluss an eine Expositionsphase von 56 Tagen erfolgte eine stete Abnahme der HBCD-Diastereomeren-Gehalte über einen Zeitraum von 112 Tagen, in welchem den Versuchstieren nur noch unbehandeltes Futter angeboten wurde. Während dieser, mit dem 63. Versuchstag des Experimentes beginnenden Abklingphase, kam es zu einem Absinken der (\pm)- β - und (\pm)- γ -HBCD-Gehalte einhergehend mit einem Ansteigen der (\pm)- α -HBCD-Belastung. Die von Law *et al.* beschriebene Verschiebung des Diastereomeren-Verteilungsmusters wurde als Hinweis auf eine stattgefundene Bioisomerisierung unter den gegebenen Bedingungen interpretiert. Eine weiterführende Fütterungsstudie wurde erst kürzlich von Du *et al.* publiziert [351]. Basierend auf der Exposition von Zebrafischen (*Danio rerio*) über eine Versuchsdauer von 42 Tagen und einer 21tägigen Periode, in der ausschließlich HBCD-freies Futter gegeben wurde, ermittelten die Autoren das Akkumulationsverhalten der Versuchstiere gegenüber der α -, β - und γ -HBCD-Diastereomere. Die Auswertung der erhaltenen HPLC-MS/MS-Chromatogramme ergab geringe Mengen an α -HBCD (unterhalb der Bestimmungsgrenze) in der Gruppe der Versuchstiere, die mit γ -HBCD gefüttert wurden. Unter Annahme, dass es sich hierbei um keine Verschleppung bzw. Verunreinigung handelt, kann dies ebenfalls als ein Hinweis auf eine mögliche Bioisomerisierung gedeutet werden.

Aufgrund der durchgeführten enantiomerenspezifischen Fütterung mit reinem (+)- bzw. (-)- γ -HBCD würde sich eine auftretende Bioisomerisierung neben der Bildung der entsprechenden HBCD-Enantiomere auch in einer unter Berücksichtigung der erweiterten Messunsicherheit (U) signifikanten Änderung der jeweiligen EF-Werte nachweisen lassen. Unter Berücksichtigung des bei der thermischen Interkonvertierung aufgeklärten Isomerisierungsschemas müsste neben der Änderung der EF $_{\gamma}$ - auch eine signifikante Änderung der EF $_{\alpha}$ -Werte erfolgen. In Abbildung 45 ist der Verlauf der entsprechenden EF-Werte im Muskelfleisch der Spiegelskarpfen für die drei Versuchsgruppen graphisch dargestellt.

Während die Bioakkumulation der zugeführten γ -HBCD-Enantiomere an den steigenden bzw. sinkenden EF $_{\gamma}$ -Werten der jeweiligen Fütterungsgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich zu erkennen ist, bleiben die EF $_{\alpha}$ -Werte unter Berücksichtigung der erweiterten Messunsicherheit über die gesamte Versuchsdauer nahezu konstant. Das Auftreten von signifikanten Abweichungen der EF $_{\alpha}$ -Werte vom razemischen Wert der Kontrollgruppe wurde unter Anwendung des Student-t-Tests ermittelt [352]. Der Gesamtmittelwert von EF $_{\alpha}$ liegt bei 0,5091, wobei die Halbwertsbreite des Vertrauensbereiches 0,0098 (P = 99 %) beträgt. Da der razemische Wert vom Vertrauensbereich des EF $_{\alpha}$ -Wertes mit eingeschlossen ist, unterscheiden sich beide Werte aus statistischer Sicht nicht signifikant.

Bedingt durch die kleinen Stichprobenumfänge erfolgte der Vergleich der gemittelten EF $_{\alpha}$ -Werte der Fütterungsgruppen ((-)- γ -HBCD-Fütterungsgruppe: EF $_{\alpha}$ = 0,5112 \pm 0,0110; ((+)- γ -HBCD-Fütterungsgruppe: EF $_{\alpha}$ = 0,4963 \pm 0,0220) mit dem EF $_{\alpha}$ -Mittelwert der Kontrollgruppe (0,5198 \pm 0,0190) mit Hilfe des Rangkorrelationskoeffizienten nach Kendall (τ -Wert, Gleichung 12; α = 0,05). Mit einem τ -Wert von 1,126 unterscheidet sich demnach die (+)- γ - im Vergleich zur (-)- γ -HBCD-Fütterungsgruppe (τ = 0,545) signifikant von der Kontrollgruppe.

$$\tau = \frac{|EF_{Gruppe1} - EF_{Gruppe2}|}{t(0,05, n) \cdot \sqrt{s^2_{Gruppe1} + s^2_{Gruppe2}}} \quad (12) \quad n: \text{Anzahl der Einzelanalysen (n = 4)}$$

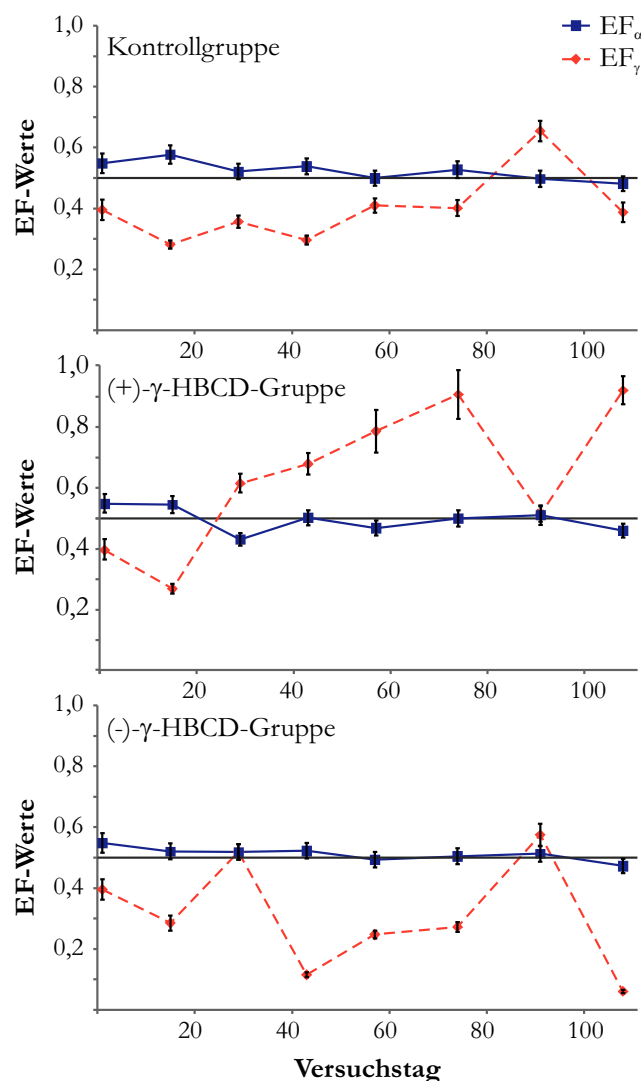


Abbildung 45: Entwicklung der EF_α- und EF_γ-Werte der aufgereinigten Muskelfleisch-Extrakte der drei Spiegelkarpfen-Versuchsgruppen (n = 4; Unsicherheitsbalken entsprechen der erweiterten Messunsicherheit).

Um eine zeitliche Entwicklung der EF_α-Werte innerhalb der drei Versuchsgruppen auszuschließen, wurde eine *Ordinary Least Squares* (OLS)-Regression (linearer Fall, $P = 0,995$) durchgeführt. Eine graphische Darstellung der Differenz der EF_α-Werte der beiden Fütterungsgruppen, aufgetragen gegen die Versuchstage, lässt auf eine mögliche Adaption bzw. Gewöhnung der Versuchstiere an das kontaminierte Futter schließen (Abbildung 46). Hierbei ist eine Art „Echo“ zwischen den Versuchstagen null und 40 zu erkennen, welche zu einer Anreicherung von (+)-α-HBCD führt. Anschließend folgt ab dem 40. Versuchstag über die verbleibende Dauer des Experiments eine asymptotische Angleichung der EF_α-Werte an den racemischen Wert einhergehend mit einer Verringerung der Differenz.

Diese Beobachtungen legen in Anbetracht der ab dem 73. Versuchstag abklingenden (+)- bzw. (-)-γ-HBCD-Gehalte die Vermutung einer möglichen Anpassung seitens des biologischen Systems (Versuchstiere) an eine erhöhte HBCD-Exposition nahe. Wie aus Abbildung 46 entnommen werden kann, sind die beiden Fütterungs-Gruppen am Ende der Studie (107. Versuchstag) anhand ihrer EF_α-Werte nicht mehr voneinander signifikant unterscheidbar.

Zusammenfassend konnte im Verlauf dieser Fütterungs-Studie mit Spiegelkarpfen kein Beweis für das Auftreten einer Bioisomerisierung der HBCD-Stereoisomere erbracht werden. Es sollte allerdings berücksichtigt werden, dass unterschiedliche Organismen (somit auch verschiedene Fischarten) verschiedene Stoffwechselprozesse und -geschwindigkeiten aufweisen können. Somit ist die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, dass während des Untersuchungszeitraumes eine Bioisomerisierung, wenn überhaupt nur sehr langsam, erfolgte. Diese Hypothese wird durch eine weiterführende Fütterungsstudie an Zebrafischen bestätigt [351]. Nichts desto trotz ist ein direkter Vergleich der in dieser Arbeit ermittelten

Ergebnisse mit den Resultaten der Fütterungsstudie (Regenbogenforellen) von Law *et al.* [135] aufgrund des abweichenden Versuchsaufbaus bzw. des Einsatzes unterschiedlicher Versuchstiere nur bedingt möglich. Um zukünftig anhand der ermittelbaren Massenbilanz nähere Informationen hinsichtlich möglicher (enantiomerspezifischer) Ausscheidungsprozesse zu erlangen, sollten weitere Untersuchungen sowohl des Beckenwassers als auch der Ausscheidungen der Fische durchgeführt werden.

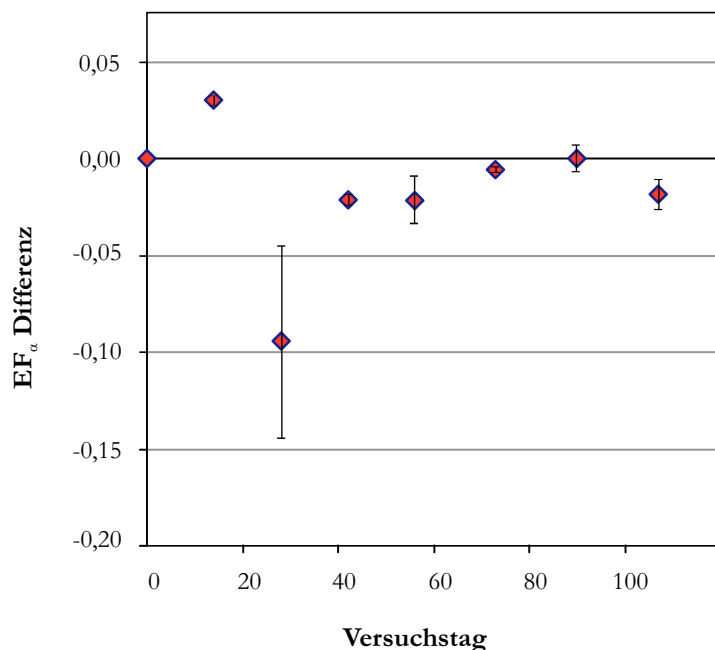


Abbildung 46: Differenz der EF_{α} Werte der beiden Fütterungsgruppen (aufgereinigte Muskelfleisch-Extrakte).

4.6 Untersuchungen zum mikrosomalen Metabolismus von HBCD

Unter den Begriffen Metabolismus bzw. Biotransformation wird die Umwandlung oder der Abbau körperfremder Stoffe, sog. Xenobiotika, verstanden, welcher zumeist in zwei prinzipiellen Reaktionsschritten, der Phase I und II, verläuft. Die Phase I, die Funktionalisierung des Fremdstoffes dient dazu, mit durch Cytochrom P450-Enzyme katalysierte Oxidationen die Polarität des jeweiligen Fremdstoffs zu erhöhen und somit der Phase II (Konjugations)-Reaktion zugänglich zu machen. Unter Mitwirkung spezialisierter Transferaseenzyme wird die Wasserlöslichkeit der entsprechenden Verbindungen durch Konjugation mit z. B. Säureresten erhöht, woraus eine verbesserte Ausscheidung durch den Organismus erreicht wird [353].

Über die Metabolisierungsprozesse von HBCD ist bislang nur wenig bekannt. Zegers *et al.* [137] und Huthala *et al.* [93] berichteten von Untersuchungen mit HBCD-Diastereomeren, welche mit Lebermikrosomen inkubiert wurden. Hierbei wurde eine Verschiebung des Diastereomerenmusters in Richtung eines steigenden Gehaltes an α -HBCD beobachtet, was wiederum den Verdacht auf eine mögliche Anreicherung von α -HBCD im Verlauf der Stoffwechselprozesse im Organismus erhärtet. Darüber hinaus konnten zwei monohydroxylierte HBCD-Metabolite, entstanden aus β - und γ -HBCD, identifiziert werden, welche schon z. T. in Biotaprobten (Gemeiner Schweinswal) nachgewiesen werden konnten. Das Auftreten möglicher HBCD-Metabolite wurde darüber hinaus im Rahmen einer Fütterungsstudie an Mäusen untersucht [354]. Hakk *et al.* konnten in Mäusen, die mit α -HBCD gefüttert wurden insgesamt vier hydroxylierte Metabolite identifizieren, wohingegen der Abbau von γ -HBCD ein Gemisch von (mehrfach) hydroxylierten und/oder pentabromierten Verbindungen ergab.

Ziel der hier vorgestellten Untersuchungen war eine detaillierte Aufklärung des Phase I-Metabolismus der HBCD-Stereoisomere im Rahmen eines mikrosomalen *in vitro*-Modells. Im Speziellen sollten nähere Informationen hinsichtlich der Abbaukinetik der HBCD-Isomere, der Enantiomerspezifität sowie der jeweiligen Metabolitmuster, welche sich aus jedem einzelnen Enantiomer entwickeln, gesammelt werden.

4.6.1 Charakterisierung der Lebermikrosomen

Um eine Aussage hinsichtlich der Aktivität der eigens für diese Untersuchungen isolierten Fischlebermikrosomen treffen zu können, erfolgte deren Charakterisierung anhand der Proteinbestimmung nach Bradford [279] sowie der Bestimmung des Cytochrom-Gehaltes mittels Differenzspektroskopie [280]. Um eine bessere Vergleichbarkeit und Einordnung der Untersuchungsergebnisse zu gewährleisten, wurden zusätzlich auch kommerziell erworbene Lebermikrosomen (induzierte männliche SD-Rattenlebermikrosomen und nichtinduzierte männliche Lewis-Rattenlebermikrosomen) parallel charakterisiert und eingesetzt.

4.6.1.1 Proteinbestimmung nach Bradford

Das Prinzip der Proteinbestimmung nach Bradford [279] basiert auf der Bildung eines Farbkomplexes aus Proteinen und dem Farbstoff Coomassie Serva Blue G® in saurer Lösung, wodurch das Absorptionsmaximum des Farbstoffes von 465 auf etwa 590 nm verschoben wird (Kapitel 3.9.2.1). Die gemittelten Ergebnisse sind in Tabelle 38 und die Kalibrierkurve der BSA-Standardreihe in Abbildung 47 dargestellt. Die Bestimmung der Proteingehalte der verwendeten Mikrosomen bildet die wesentliche Voraussetzung für die Ermittlung des entsprechenden Cytochrom P450-Gehaltes.

Tabelle 38: Mittlere Proteingehalte ($\pm s$) der verwendeten Mikrosomen, bestimmt nach Bradford ($n = 3$; [279]).

Mikrosomen	ind. SD-Ratte	Lewis-Ratte	Karpfen	Forelle
c [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	1168 ± 76	$342,9 \pm 2,1$	$661,8 \pm 3,5$	$445,2 \pm 0,3$
c _{Prot} [mg mL^{-1}]	$58,4 \pm 3,8$	$17,1 \pm 0,1$	$33,1 \pm 0,2$	$22,26 \pm 0,02$

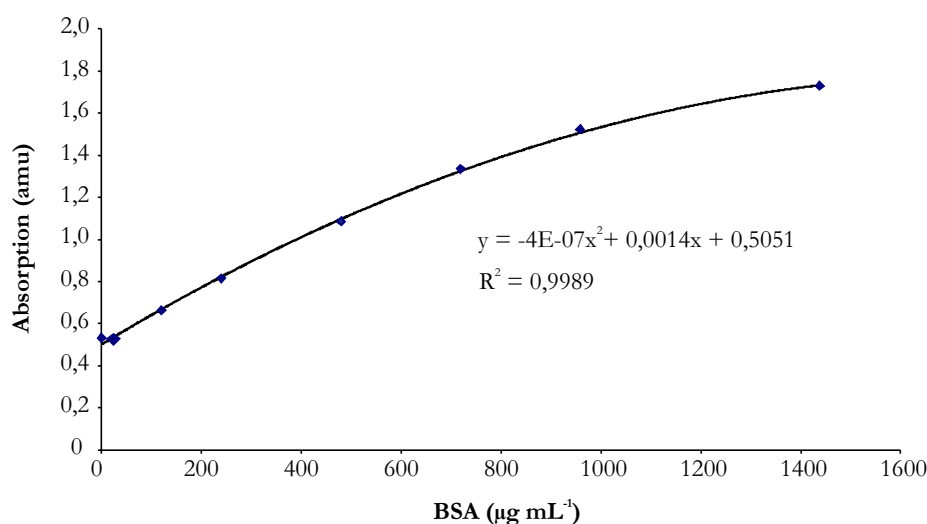


Abbildung 47: Kalibrierkurve der BSA-Standardreihe zur Ermittlung des Proteingehaltes.

4.6.1.2 Bestimmung des Cytochrom P450-Gehaltes

Die angewandte Methode beruht auf der Absorption des Häm-Eisens der Porphyrin-Gruppen cytochromhaltiger Proteine nach irreversibler Bindung von Kohlenmonoxid bei 450 nm. Das für hämhaltige Proteine spezifische Absorptionsverhalten wird durch Aufnahme der Spektren des freien Cytochroms und des Cytochrom-Kohlenstoffmonoxid (CYP-CO)-Komplexes zwischen 400-500 nm und anschließender Ermittlung des resultierenden Differenzspektrums ausgenutzt. Aus der Differenz der Absorptionswerte dieses Spektrums bei 450 und 490 nm kann der Cytochrom-Gehalt berechnet werden. Die in Tabelle 39 aufgeführten Gehalte wurden unter Verwendung von Gleichung 2 (Kapitel 3.9.2.2) ermittelt.

Tabelle 39: Ermittelte CYP-Gehalte der verschiedenen verwendeten Lebermikrosomen ($MW \pm s$; $n = 3$).

Mikrosomen	c_{CYP} (nmol mL ⁻¹)	c_{CYP} (nmol mg ⁻¹ Protein)
ind. SD-Ratte	$61,2 \pm 1,8$	$1,05 \pm 0,03$
Karpfen	$1,83 \pm 0,25$	$0,0554 \pm 0,0076$
Forelle	$2,01 \pm 0,24$	$0,0912 \pm 0,0111$
Lewis-Ratte	$9,25 \pm 3,81$	$0,227 \pm 0,0420$

4.6.2 Untersuchung der enantiomerenspezifischen Abbaukinetiken von HBCD im Rahmen mikrosomaler Ansätze

Um die Abbaukinetiken der HBCD-Isomere durch Lebermikrosomen zu ermitteln, wurden reine α - und γ -HBCD-Enantiomere sowie racemisches β -HBCD eingesetzt. Hierfür wurden je zwei Versuchsreihen über eine Dauer von 5, 10, 20, 30, 40 und 50 Minuten inkubiert, aufgearbeitet und mittels HPLC-MS/MS (unter Verwendung interner Standards) analysiert. Als mikrosomale Fraktion wurden induzierte Rattenlebermikrosomen verwendet, um evtl. auftretende Metabolisierungsprozesse zu begünstigen bzw. zu beschleunigen. Die daraus resultierenden Zeitreihen sind in Abbildung 48 dargestellt. Es ist zu erkennen, dass β -HBCD im Vergleich zu den anderen beiden Diastereomeren einem deutlich schnellerem Abbau unterliegt, sodass bereits nach den ersten fünf Minuten der Inkubation der β -HBCD-Gehalt um etwa 80 % reduziert ist. Im Falle von α - und γ -HBCD wird dieser Abbaugrad erst nach 40 bis 50 Minuten erreicht. Wie aus Abbildung 49 am Beispiel von (\pm)- γ -HBCD zu entnehmen ist, weisen die durchgeführten Zeitreihen eine lineare Abhängigkeit vom Substratgehalt auf.

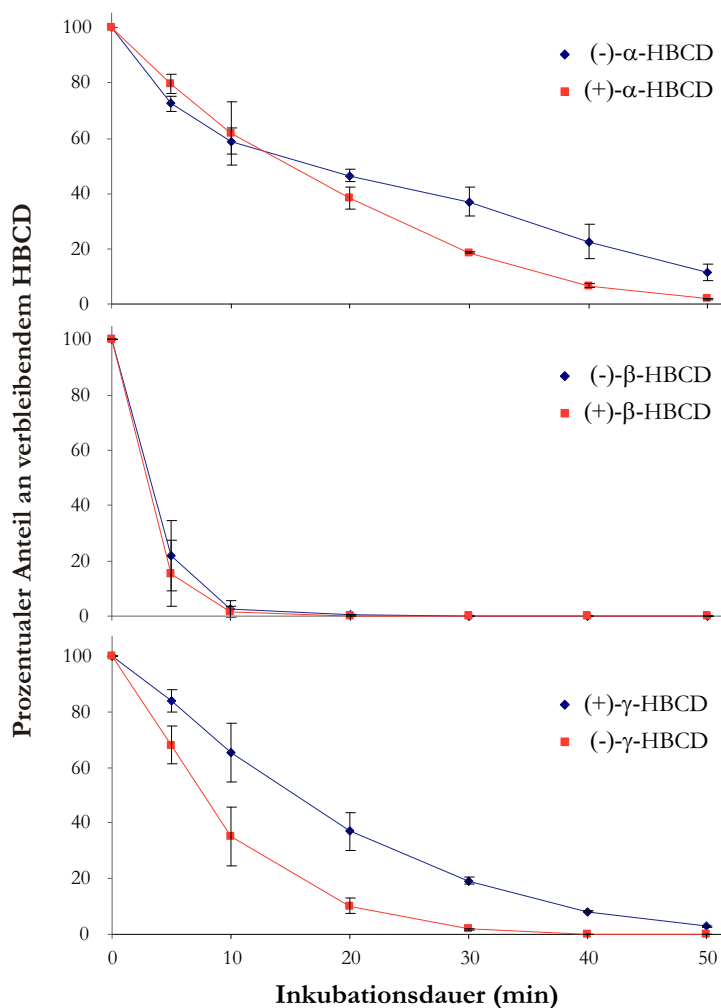


Abbildung 48: Zeitlicher Verlauf des Abbaus der α -, β -, und γ -HBCD-Enantiomere ($\pm s$) im Rahmen der Inkubationsansätze mit induzierten Rattenlebermikrosomen ($n = 2$, $m = 2$).

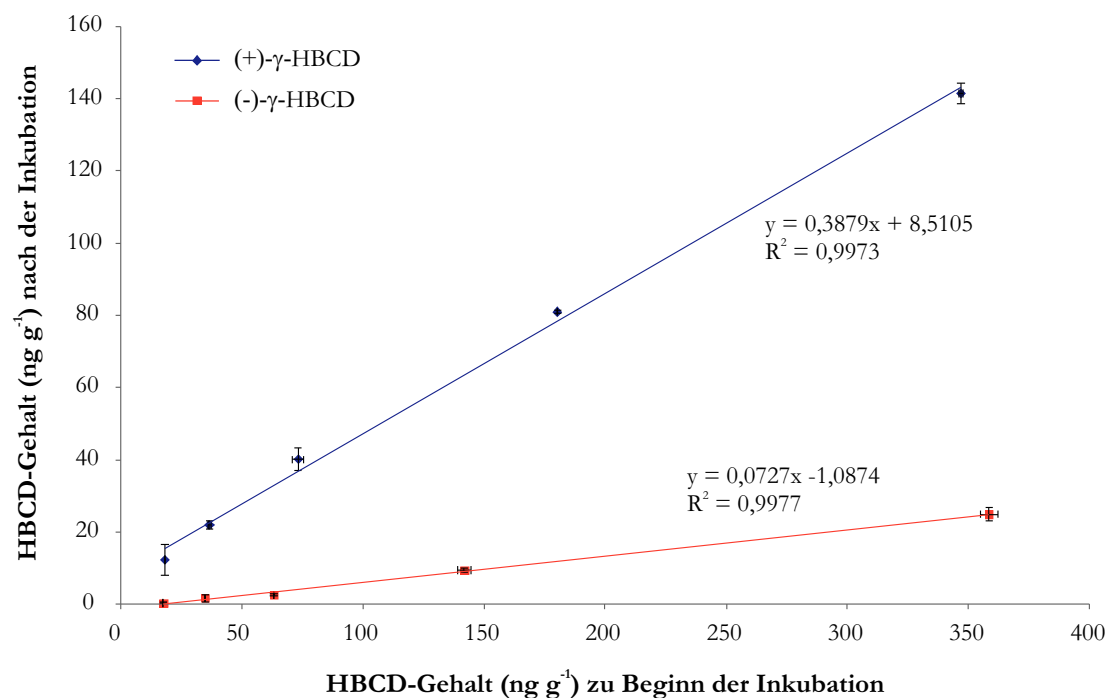


Abbildung 49: Abhängigkeit der Biotransformation vom (+)- und (-)-γ-HBCD-Gehalt ($\pm s$) nach 20minütiger Inkubation mit induzierten Rattenlebermikrosomen ($n = 2, m = 2$).

Zur Ermittlung dieser Abhängigkeit wurden unterschiedliche Gehaltsniveaus über einen Zeitraum von 20 Minuten inkubiert und der jeweilige Ausgangsgehalt gegen den in der Lösung nach der Inkubation verbliebenen Gehalt aufgetragen. Die daraus resultierenden Regressionsdaten jedes einzelnen HBCD-Enantiomers sind in Tabelle 40 zusammengestellt. Infolge des linearen Zusammenhangs zwischen Substratgehalt und -abbau sowie der linearen Beziehung zwischen dem natürlichen Logarithmus des jeweiligen HBCD-Gehaltes ($\ln(c_{\text{HBCD}})$) und der Inkubationszeit t (Tabelle 41) kann geschlossen werden, dass die Biotransformation von HBCD einer Reaktion erster Ordnung entspricht.

Tabelle 40: Enantiomerenspezifische Geradengleichungen und Bestimmtheitsmaße R^2 aus der Bestimmung der jeweiligen Reaktionsordnungen.

HBCD-Enantiomer	Geradengleichung	R^2
(-)-α-HBCD	$y = 0,3576x - 1,1674$	0,9977
(+)-α-HBCD	$y = 0,1831x - 0,3411$	0,9968
(-)-β-HBCD	$y = 0,0283x - 0,1192$	0,9973
(+)-β-HBCD	$y = 0,0265x + 0,6017$	0,9956
(+)-γ-HBCD	$y = 0,3879x + 8,5105$	0,9973
(-)-γ-HBCD	$y = 0,0727x - 1,0874$	0,9977

Tabelle 41: Abbauraten (k) und Halbwertszeiten ($t_{1/2}$) der HBCD-Stereoisomere nach Inkubation mit induzierten Rattenlebermikrosomen.

HBCD-Enantiomer	k (min^{-1})	$t_{1/2}$ (min)	R^2 ^a
(-)-α-HBCD	0,028	24,4	0,9973
(+)-α-HBCD	0,049	14,1	0,9933
(-)-β-HBCD	0,109	6,32	0,9977
(+)-β-HBCD	0,109	6,35	0,9978
(+)-γ-HBCD	0,021	32,3	0,9998
(-)-γ-HBCD	0,060	11,6	0,9984

^a Bestimmtheitsmaß der linearen Beziehung zwischen $\ln(c_{\text{HBCD}})$ und t

Basierend auf diesem Ergebnis war es möglich, die in Tabelle 41 aufgeführten Geschwindigkeitskonstanten (k) und Halbwertszeiten ($t_{1/2}$) für jedes HBCD-Enantiomer zu berechnen. Bei näherer Betrachtung der so ermittelten Daten ist festzustellen, dass die Stereoisomere mit Ausnahme von β -HBCD unterschiedlich schnell metabolisieren. Neben den mit $t_{1/2} = 6,32$ bzw. $6,35$ min nur marginal verschiedenen Halbwertszeiten nimmt β -HBCD auch diesbezüglich eine Sonderstellung unter den HBCD-Stereoisomeren ein und weist darüber hinaus die mit Abstand höchsten Abbauraten aller sechs HBCD-Enantiomere auf ($0,109 \text{ min}^{-1}$). Die ermittelten Daten bestätigen somit die im Rahmen der zeitlichen mikrosomalen Abbauprobe von HBCD erhaltenen Ergebnisse (Abbildung 48). Hinsichtlich der α - und γ -HBCD-Isomere ist während der mikrosomalen Inkubation zu beobachten, dass die von der chiralen β -Cyclodextrinphase jeweils zuerst eluierenden Enantiomere ((-)- α und (+)- γ) eine längere Halbwertszeit aufweisen als ihre Antipoden. Die Vermutung liegt daher nahe, dass innerhalb des mikrosomalen Abbaus von α - und γ -HBCD unter Verwendung induzierter Rattenlebermikrosomen enantiomerenspezifische Prozesse ablaufen. Auf diesen Verdacht soll im Folgenden durch die weiterführende Betrachtung enantiomerenspezifischer Studien sowie die Ermittlung der entsprechenden EF-Werte näher eingegangen werden. Abbildung 50 zeigt die graphische Darstellung der ermittelten EF-Werte nach Inkubation der α -, β - und γ -HBCD-Razemate mit induzierten Rattenlebermikrosomen über eine Periode von 5-50 Minuten. Hierbei deutet der abnehmende EF_α -Wert auf einen schnelleren Abbau des (+)-Enantiomers und die Zunahme des EF_γ -Wertes auf einen schnelleren Abbau des (-)-Enantiomers hin. Resultierend daraus konnten die für die reinen HBCD-Enantiomere erhaltenen Ergebnisse unter Verwendung eines Diastereomeren-Gemisches reproduziert werden, weshalb eine gegenseitige Inhibierung der HBCD-Stereoisomere im relevanten Maßstab ausgeschlossen werden kann.

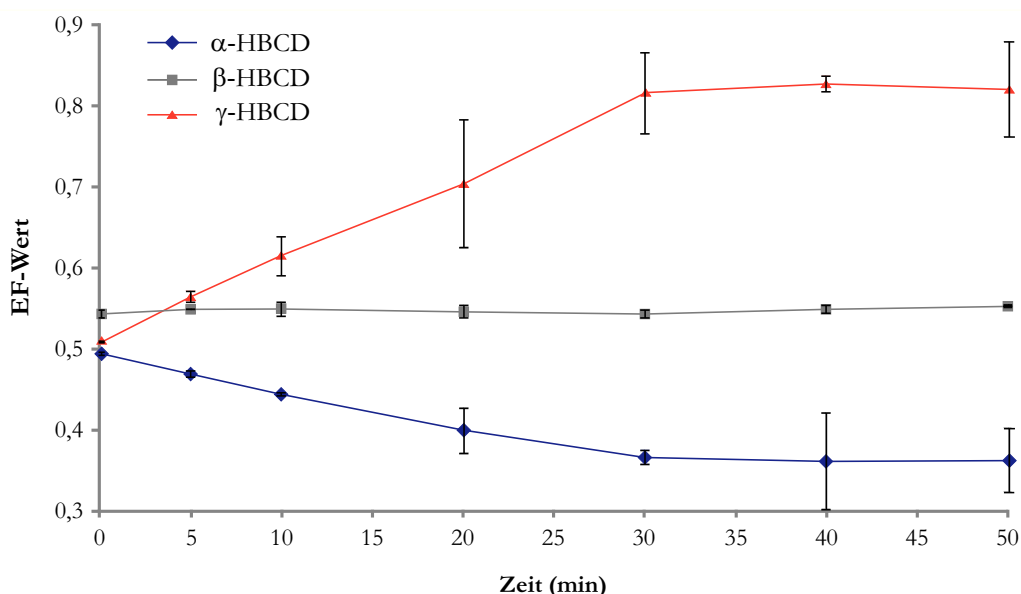


Abbildung 50: Verlauf der EF-Werte ($\pm s$) von α -, β - und γ - HBCD (Razemate) nach Inkubation über einen Zeitraum von 5 bis 50 min ($n = 2, m = 2$).

Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass die hier beobachteten Abbauraten von den spezifischen Eigenschaften des jeweiligen biologischen Systems, welches für die Experimente eingesetzt wurde (hier: induzierte SD-Ratte), abhängen. Die dementsprechend auftretende Variabilität, welche in unterschiedliche Enzymkonzentrationen bzw. -aktivitäten innerhalb der Mikrosomen begründet sein kann, hat mitunter zur Folge, dass u. U. gänzlich verschiedene Metabolisierungswege oder Metabolitmuster beobachtet werden können. Aus diesem Grund sind die in dieser Studie ermittelten Daten stets in Zusammenhang mit den jeweiligen Organismus zu sehen, welcher zur Isolierung der Lebermikrosomen herangezogen wurde und dürfen nicht absolut betrachtet werden. Dennoch konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die Phase I-Reaktion im Rahmen des Fremdstoffmetabolismus die chirale Signatur

der HBCD-Diastereomere in Biota beeinflusst. Sowohl die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen an Silbermöweneiern (Kapitel 4.3.2 und 4.3.3), als auch durch verschiedene Studien, welche von chiralen Signaturen von α -HBCD in Biota berichteten, stützen diese Hypothese [88,94,100,111,112,137,138,141,144,145,177].

Bis zum jetzigen Zeitpunkt sind nur wenige Studien bekannt, die sich ebenfalls mit *in vitro*-Untersuchungen hinsichtlich der relativen Stabilität der HBCD-Stereoisomere gegenüber dem Phase I-Metabolismus beschäftigten [93,137]. So inkubierten Zegers *et al.* die reinen HBCD-Diastereomere und deren äquimolares Gemisch mit Rattenlebermikrosomen der Wistar Ratte sowie des gewöhnlichen Schweinswals [137]. Die Autoren beobachteten die langsamste Abbaurate und die somit längste Verweildauer im System bei α -HBCD. Die Ergebnisse dieser sowie der Studie von Huthala *et al.* weisen darauf hin, dass die Unterschiede des Diastereomerenmusters zwischen dem technischen Gemisch und diversen untersuchten Biotaprobe auf einen schnelleren Abbau des γ -HBCD-Diastereomers zurückzuführen sind. Als Bestätigung für diese Annahme können auch die Ergebnisse einer Untersuchung an Mäusen herangezogen werden, die im Falle von γ -HBCD ebenfalls die höchsten Abbauraten zeigten [328].

Im Gegensatz zu den Beobachtungen von Zegers *et al.* und Huthala *et al.* zeigten die hier durchgeführten Untersuchungen an reinen α - und γ -Enantiomeren sowie an β -Diastereomeren keinen Hinweis auf eine Anreicherung von α -HBCD im System. Es ist daher zu vermuten, dass dieser Effekt einen komplexeren Hintergrund aufweist, möglicherweise unter Berücksichtigung unterschiedlicher Resorptionsraten oder anderer physiologische Prozesse. Die Diskrepanzen können ggf. durch die bereits erwähnte Problematik der nur eingeschränkt möglichen Übertragbarkeit der Ergebnisse verschiedener Mikrosomensysteme hervorgerufen worden sein. Weiterhin ist zu beachten, dass α -HBCD mit $48,8 \mu\text{g L}^{-1}$ [25] bzw. $41 \mu\text{g L}^{-1}$ [355] die höchste Wasserlöslichkeit aller drei Diastereomere aufweist. Die hieraus resultierende bessere Bioverfügbarkeit, im Speziellen im Falle aquatischer Organismen, könnte hierbei eine mögliche Erklärung für die Verschiebung des Diastereomeren-Verteilungsmuster in Richtung von α -HBCD sein.

4.6.3 Identifizierung und Charakterisierung von im Rahmen des mikrosomalen Abbaus gebildeten HBCD-Metaboliten

Neben der Ermittlung der Abbaukinetiken der HBCD-Stereoisomere (Phase I-Reaktion) standen weiterführende Untersuchungen hinsichtlich der Identifizierung von im Rahmen dieses *in vitro*-Ansatzes gebildeten Metabolite im Fokus der weiteren Arbeiten. Eine in der Literatur häufig beschriebene Funktionalisierungsreaktion während der Phase I-Reaktion ist die Hydroxylierung von Xenobiotika. Daher sollten die Inkubationsansätze im ersten Schritt auf das Vorliegen potentieller Hydroxy-HBCD-Metabolite hin untersucht werden. Zu diesem Zweck wurden die reinen α - und γ -HBCD-Enantiomere sowie das Razemat von β -HBCD über 50 Minuten jeweils getrennt voneinander inkubiert. Als qualitätssichernde Maßnahmen wurden Reagenzienblindwerte und Reaktionskontrollen mitgeführt, um Falsch-Positiv- bzw. Falsch-Negativ-Ergebnisse identifizieren zu können. Von allen Messlösungen wurden zunächst Full-Scan Massenspektren (Q1-Scan, m/z 100-850) an der HPLC-MS aufgenommen, um einen ersten Hinweis auf die Anwesenheit hydroxylierter oder anderer Metabolite zu erhalten. Im Falle der Inkubationslösungen von α - und γ -HBCD konnten in den Massenspektren neben den jeweiligen HBCD-Signalen auch weitere Peaks mit einem für die Anwesenheit von sechs Brom-Atomen typischen Isotopenverteilungsmuster im Spektrum identifiziert werden (Abbildung 51). Unter Berücksichtigung der Verschiebung des m/z -Verhältnisses von 640,6 im HBCD-Quasi-Molekülion hin zu 656,7 (Differenz von m/z 16,1) konnte darauf geschlossen werden, dass es sich bei dem vorliegenden Molekül um ein monohydroxyliertes HBCD ($[^{12}\text{C}_{12}\text{H}_{17}^{16}\text{O}^{79}\text{Br}_3^{81}\text{Br}_3]^-$, m/z 656,7) und somit um ein im Rahmen der Phase I-Reaktion entstandenes Abbauprodukt des HBCDs handelt. Neben diesem deprotonierten Quasi-Molekülion ($[\text{M-H}]^-$) konnten auch Cluster-Ionen mit einem Molekül Essigsäure (m/z 716,8) und Ameisensäure (m/z 702,7) sowie mit zwei Wassermolekülen (m/z 692,7) im Spektrum identifiziert werden.

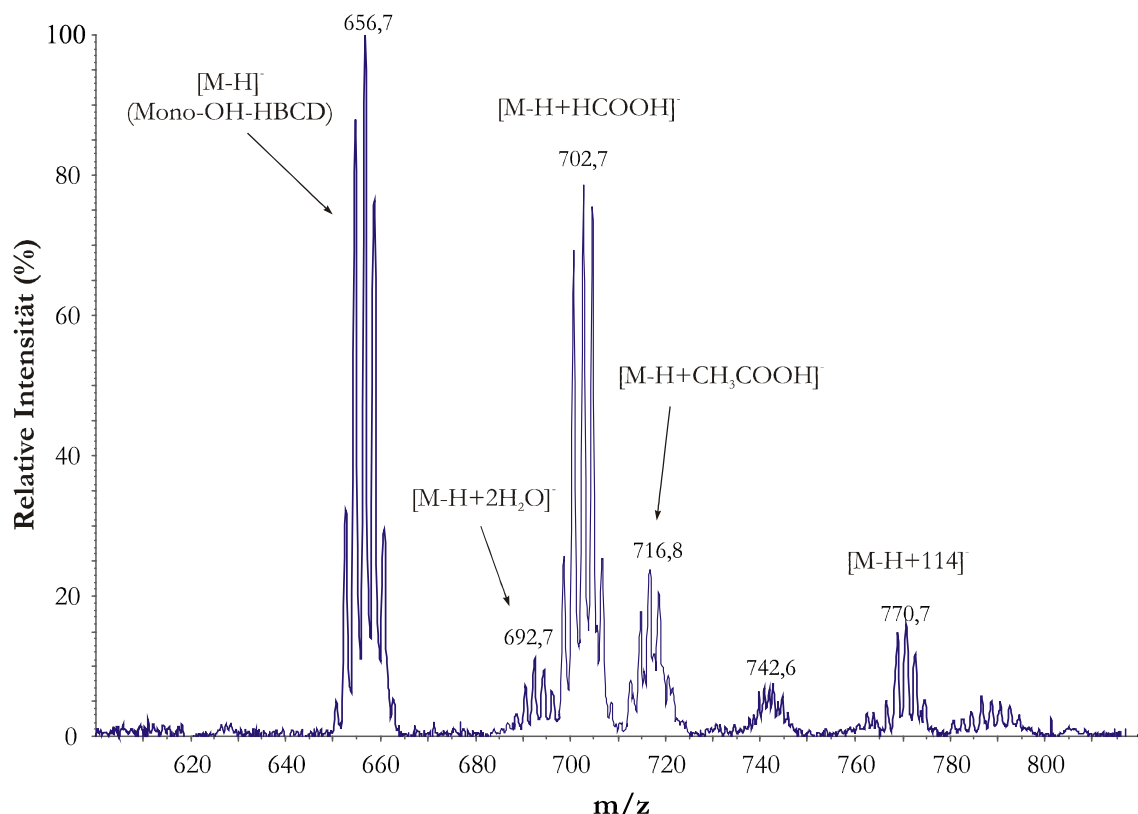


Abbildung 51: Full-Scan Massenspektrum (m/z 600-850) des Inkubationsansatzes von α -HBCD.

Analog zum HBCD ergab ein Produktions-Scan des Quasi-Moleküls ($[M-H]^-$) des monohydroxylierten HBCDs nur das Brom-Ion (Br) mit m/z 79,0 / 81,0 als einziges Fragment-Ion. Im Anschluss an die Identifizierung dieses HBCD-Metaboliten wurden die MS-Methoden-Parameter für den Massenübergang m/z 656,7 \rightarrow 79,0 optimiert. Im Anschluss wurde die Ionisierungsspannung der ESI-Quelle, deren Höhe die Signalintensität maßgeblich beeinflusst, von -4.500 bis -1.000 V variiert (Abbildung 52). Es ist deutlich zu erkennen, dass die Signalintensität bei -4.500 V ihr Maximum hat, weshalb bei allen weiteren Experimenten diese Ionisierungsspannung gewählt wurde.

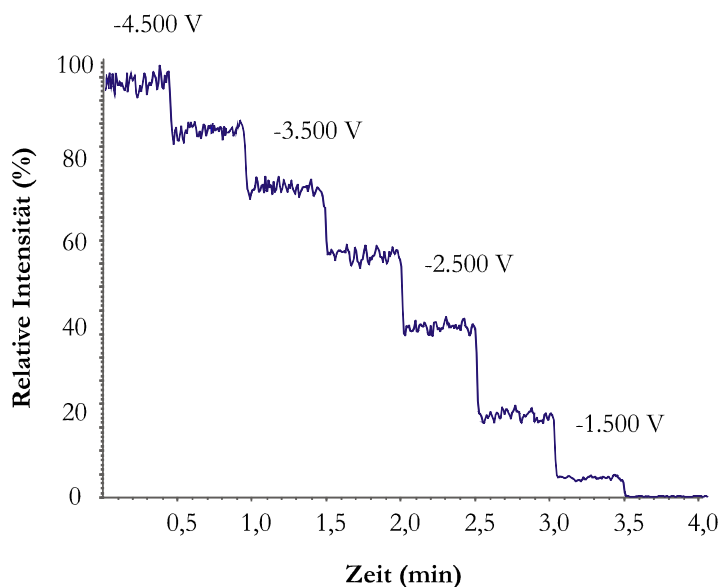


Abbildung 52: Veränderung der Ionenintensität von Monohydroxy-HBCD (SIM-Modus, m/z 656,7) bei Variation der Ionisierungsspannung der ESI-Quelle. Alle anderen MS-Parameter wurden bei dieser Messung konstant gehalten.

Die optimierten MS-Parameter können dem Kapitel 3.10 entnommen werden. Im Anschluss an die MS-Parameter-Optimierung wurden alle sechs HBCD-Isomere im Hinblick auf ihr Monohydroxy-HBCD-Verteilungsmuster unter Verwendung des Massenüberganges m/z 656,7 \rightarrow 79,0 untersucht. Die

Enantiomere von α - und γ -HBCD zeigten hierbei deutliche Metabolitenmuster, wohingegen bei β -HBCD keine Signale von Monohydroxy-HBCD oder anderen Verbindungen identifiziert werden konnten. Abbildung 53 zeigt die jeweiligen Chromatogramme der Monohydroxy-HBCD-Metabolite nach Inkubation der α - und γ -HBCD-Enantiomere mit induzierten Rattenlebermikrosomen. Auffallend ist, dass mit Ausnahme von (+)- α -HBCD immer mindestens zwei Signale mit unterschiedlichen Intensitäten detektiert werden konnten. Aufgrund der unbekannten Responsefaktoren konnte jedoch kein Rückschluss auf die jeweiligen Gehaltsniveaus erfolgen.

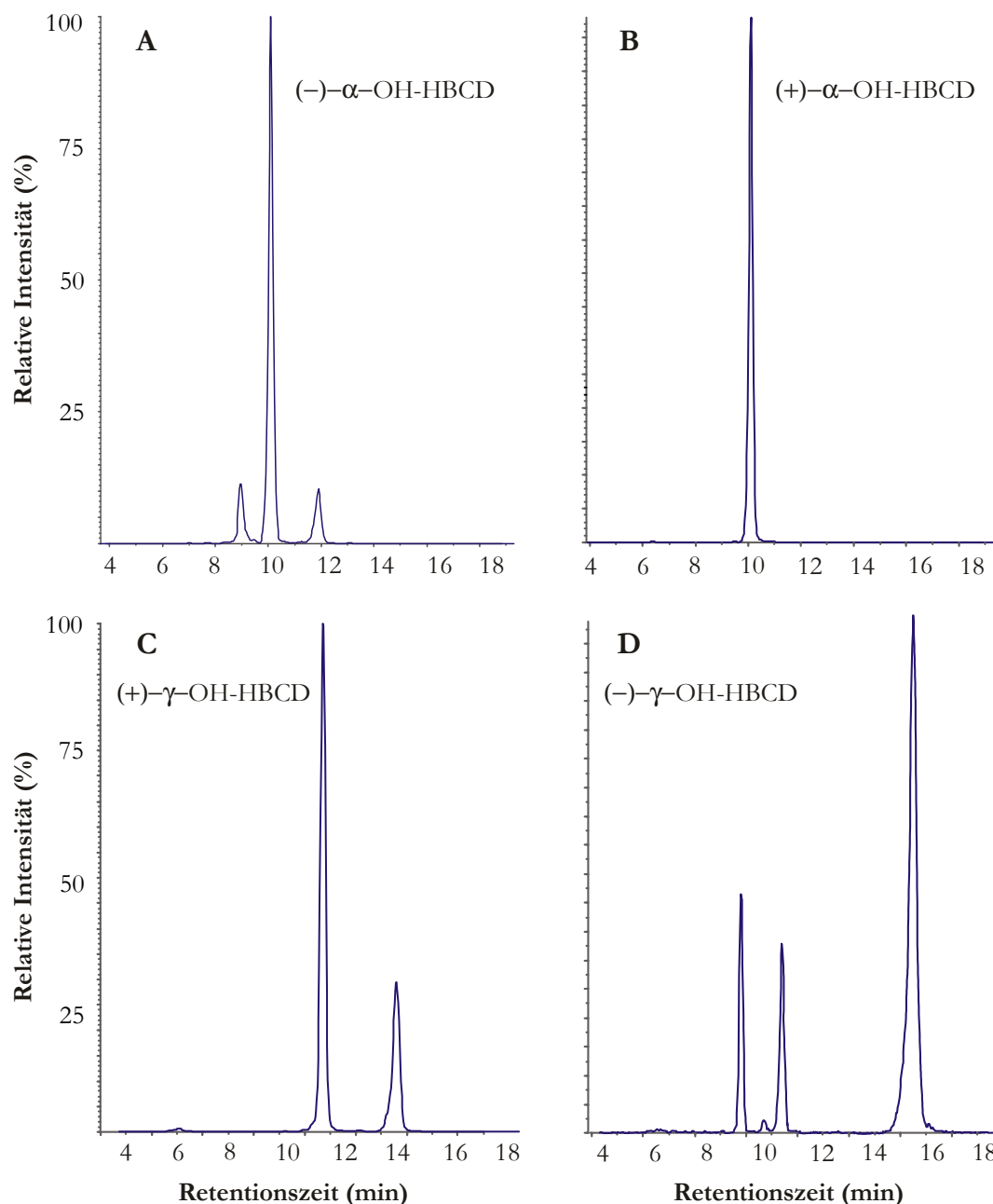


Abbildung 53: SRM-Chromatogramm der Monohydroxy-HBCD-Metabolite (m/z 656,7 \rightarrow 79,0) der reinen α -(**A** und **B**) und γ -HBCD-Enantiomere (**C** und **D**).

Im Anschluss an die Inkubation der reinen HBCD-Enantiomere erfolgte in analoger Weise die Untersuchung eines äquimolaren Diastereomerengemisches aus α -, β - und γ -HBCD. Mit Hilfe der Ergebnisse der Enantiomeren-Inkubationen war es erstmals möglich, eine Zuordnung der Monohydroxy-Metabolite des HBCDs zum jeweiligen HBCD-Enantiomer durchzuführen. Bei Betrachtung der in Abbildung 54 gezeigten Gegenüberstellung des HBCD-Diastereomerengemisches und den nach mikrosomaler

Inkubation gebildeten Metabolite fällt zunächst auf, dass die Monohydroxy-HBCDs aufgrund ihrer höheren Polarität stets vor den entsprechenden HBCD-Isomeren von der HPLC-Säule eluieren. Ähnliche Untersuchungen bestätigen diese Beobachtung [93,227], die aufgrund der höheren Polarität der Metabolite in Zusammenhang mit den verwendeten HPLC-Phasen auch zu erwarten ist.

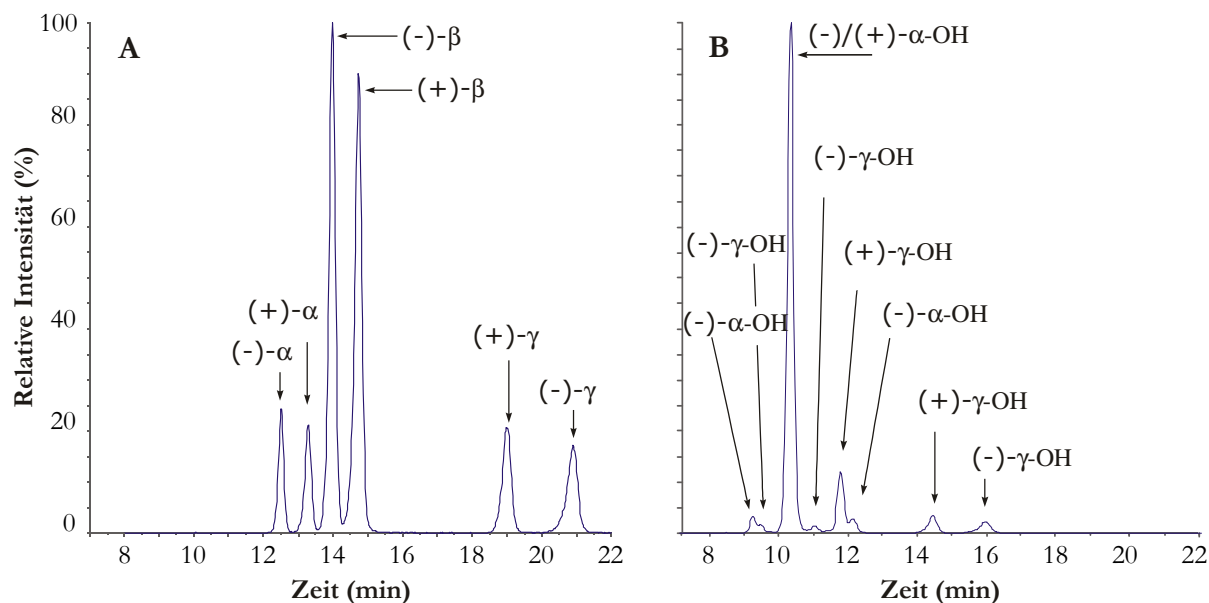


Abbildung 54: SRM-Chromatogramm eines äquimolaren Diastereomergemisches von HBCD (m/z 640,6 \rightarrow 79,0; **A**) und der daraus nach mikrosomaler Inkubation erhaltenen Lösung der Monohydroxy-HBCD-Metabolite (m/z 656,7 \rightarrow 79,0; **B**).

Im Ergebnis der Inkubation bilden sich aus (-)-α-HBCD drei Monohydroxy-HBCDs, wohingegen aus (+)-α-HBCD nur ein monohydroxylierter Metabolit entsteht, der mit einer Retentionszeit von 10,4 min mit einem der Metabolite des (-)-α-HBCD co-eluiert. Da eine identische Struktur der beiden Metabolit-Signale aufgrund der unterschiedlichen zugrundeliegenden absoluten Konfigurationen der beiden α-HBCD-Enantiomere ausgeschlossen werden kann, handelt es sich hierbei um zwei verschiedene Isomere. Ausgehend von (+)-γ-HBCD konnten zwei und von (-)-γ-HBCD drei weitere monohydroxylierte HBCD-Metabolite identifiziert werden. Die Variation der HPLC-Bedingungen (bspw. Gradienten-Zusammensetzung, Säulenofentemperatur) führte zu keiner verbesserten chromatographischen Auftrennung der Monohydroxy-HBCDs des Diastereomeren-Gemisches sowie der Enantiomeren-Lösungen. Somit konnte das Auftreten weiterer Co-Elutionen nicht vollständig ausgeschlossen werden. Darüber hinaus gilt es zu beachten, dass bei theoretischer Betrachtung der Hydroxylierung von α- und γ-HBCD maximal sechs diastereomere Monohydroxy-HBCDs gebildet werden können [356].

Ein Vergleich des Monohydroxy-HBCD-Verteilungsmusters mit Beobachtungen aus der Literatur ist nicht ohne weiteres möglich, da bislang lediglich reine Diastereomere oder Diastereomeren-Gemische zur Untersuchung mikrosomaler Inkubationen eingesetzt wurden. Ein Ansatz mit reinem (±)-β- und (±)-γ-HBCD resultierte in insgesamt vier monohydroxylierten HBCD-Metabolite [137], welche allerdings für die Aufnahme eines Full-Scan Massenspektrums zu geringe Konzentrationen aufwiesen, sodass keine abschließende Identifikation möglich war. Darüber hinaus konnten Brandsma *et al.* fünf Monohydroxy-HBCDs in Fettgewebe männlicher Ratten nach Exposition mit technischem HBCD unter Verwendung der HPLC-MS identifizieren [227]. Allerdings konnten die Autoren keine Zuordnung dieser Verbindungen zu den entsprechenden HBCD-Isomeren durchführen.

Im weiteren Verlauf dieser Promotionsarbeit erfolgte die Ermittlung der chromatographischen Parameter wie bspw. der Retentionszeit, Auflösung, Kapazitätsfaktoren für die einzelnen identifizierten Monohydroxy-Metabolite an einer Kombination aus einer C₁₈- und einer permethylierten β-Cyclodextrin-Phase (Tabelle 42).

Tabelle 42: Retentionszeit (t_R), Kapazitätsfaktor (k'), Trennfaktor (α), Auflösung (R_s) und theoretische Bodenzahl (N) für die Trennung der monohydroxylierten HBCD-Metabolite in Kombination mit einer Zorbax XDB-C₁₈ und einer chiralen NUCLEODEX β -PM analytischen HPLC-Säule ($n = 5$, $m = 2$).

HBCD-Metabolite	t_R (min)	k^a	α^b	R_s^c	N^d (10^4)
(-)- α -OH	9,06	0,85			6,96
(-)- γ -OH	9,30	0,90	1,06	0,50	4,52
(-)- α -OH, (+)- α -OH	10,20	1,08	1,20	1,34	2,68
(-)- γ -OH	10,90	1,22	1,13	1,07	6,95
(+)- γ -OH	11,67	1,38	1,13	1,11	2,92
(-)- α -OH	12,00	1,45	1,05	0,43	4,88
(+)- γ -OH	14,48	1,96	1,35	3,46	6,00
(-)- γ -OH	16,10	2,29	1,17	1,59	2,50

^a $k' = (t_R - t_0)/t_0$, wobei t_R die Retentionszeit jedes Enantiomers und t_0 die Totzeit des Säulensystems sind

^b $\alpha = k'_2/k'_1$, die Ziffern 1 und 2 beziehen sich auf die Elutions-Reihenfolge des jeweiligen Enantiomers

^c $R_s = (t_{R1} - t_{R2})/0,5(\omega_1 + \omega_2)$, wobei ω die Peakbreite an der Basis beschreibt

^d $N = 16(t_R/\omega)^2$, wobei ω die Peakbreite an der Basis beschreibt

Eine quantitative Bestimmung der identifizierten Monohydroxy-HBCDs war aufgrund fehlender Reinstsubstanzen sowie in Ermangelung von Informationen bezüglich ihrer Responsfaktoren nicht möglich. Eine qualitative Aussage über die Entwicklung jedes einzelnen Metaboliten über die Zeit der mikrosomalen Inkubation war dennoch unter Betrachtung der jeweiligen Peakflächen durchführbar. Zu diesem Zweck wurden diastereomeren- und enantiomerenspezifische Inkubationen (um eine gegenseitige Beeinflussung der Isomere auszuschließen) an induzierten Rattenlebermikrosomen über einen Zeitraum von 5 bis 50 min durchgeführt und analog den bisherigen Untersuchungen bearbeitet ($n = 2$, $m = 2$). Die Signale der gebildeten Monohydroxy-Metabolite wurden integriert und die jeweiligen Flächen gegen die Zeit aufgetragen. Aus Abbildung 55 ist gut ersichtlich, dass die zeitlichen Entwicklungen der Peakflächen der HBCD-Abbauprodukte keinem einheitlichen Verlauf folgen. Während einige Verbindungen über die Dauer der Inkubation stetig gebildet werden, bleiben andere nach einer ersten Bildungsphase in ihrem Level konstant, bzw. werden offenbar zu anderen Verbindungen abgebaut. Am Beispiel der α -Monohydroxy-HBCDs ist zu erkennen, dass die Signale mit einer Retentionszeit von 9,06 und 12,00 min während den ersten fünf Minuten der Inkubation ihr Maximum erreichen und im Anschluss wieder leicht abfallen. Im Gegensatz dazu zeigt das α -Monohydroxy-HBCD bei $t_R = 10,2$ min nach den ersten fünf Minuten einen annähernd linearen Anstieg der Peakflächen. Da dieses Signal den größten Flächeninhalt aller α -Monohydroxy-HBCDs aufweist, leistet dieses folglich den größten Beitrag bei einer summarischen Betrachtung.

Hinsichtlich der Metabolite von γ -HBCD ergibt sich ein ähnliches Bild. Während auch hier das Signal mit Retentionszeiten von 14,48 min einen fast linearen Anstieg aufweist, zeigt das zuletzt auftretende Signal ($t_R = 16$ min) nach den ersten 10 min der Inkubation ein Absinken der Peakfläche um annähernd 50 %. Die Signale bei 9,3, 10,9 und 11,67 min zeigen dagegen nach Erreichen eines Maximums einen *steady-state*. Diese divergenten Verläufe der einzelnen Metabolite sind nur bedingt erklärbar. So ist es bspw. denkbar, dass sich einzelne Verbindungen aufgrund ihrer strukturellen Beschaffenheit im Inkubationsansatz erneut an Enzyme binden, im gebundenen Zustand vom Massenspektrometer nicht mehr erfasst werden können

und/oder einem weiteren enzymatisch katalysierten Abbau unterliegen, womit sie ebenfalls unter Verwendung des SRM-Modus nicht mehr detektiert werden könnten.

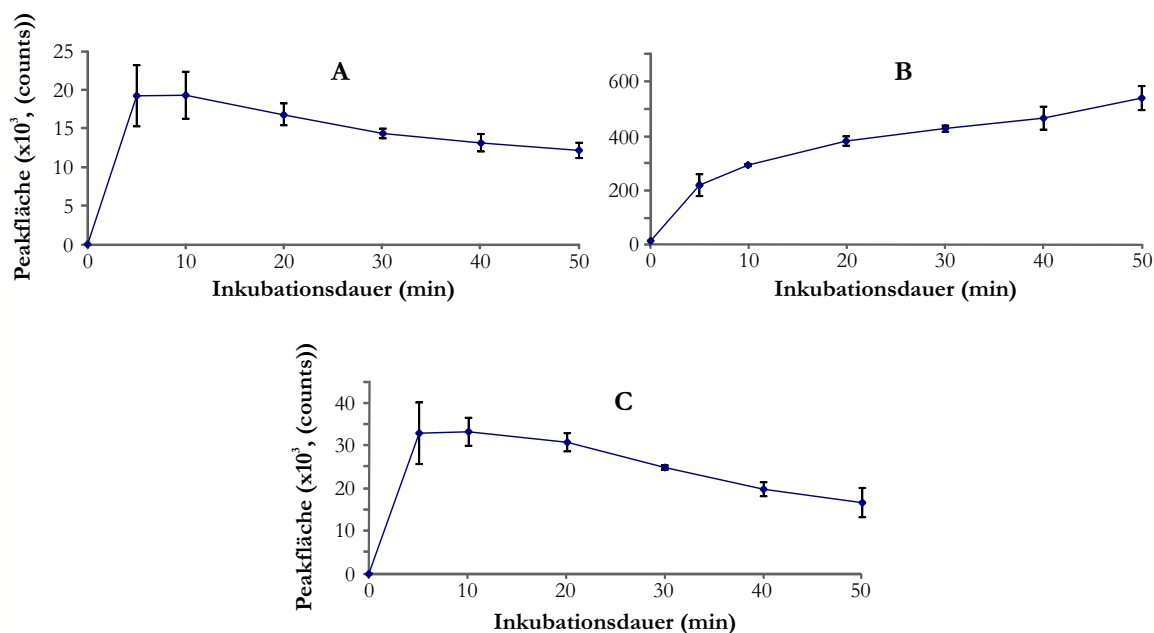


Abbildung 55: Entwicklung der Peakflächen (\pm s) der einzelnen α -Monohydroxy-HBCDs (Retentionszeit 9,06 min (A), 10,20 min (B) und 12,00 min (C)) im Verlauf der Inkubation mit induzierten Rattenlebermikrosomen (n = 3).

Um analog der bisherigen Vorgehensweise für die Monohydroxy-HBCDs weitere mögliche Phase I-Metabolite, bspw. PBCD, TBCD oder Dihydroxy-HBCDs zu identifizieren, wurden die bereits aufgenommenen Full-Scan Massenspektren bzgl. der entsprechenden m/z-Verhältnisse untersucht. Debromierte Metabolite wie PBCD oder TBCD konnten hierbei in keinem der Inkubationsansätze (von α -, β - und γ -HBCD) nachgewiesen werden. Im Falle von α - und γ -HBCD wurden neben den mono- jedoch auch verschiedene dihydroxylierte Metabolite über das Full-Scan Massenspektrum identifiziert. Abbildung 56 zeigt den Ausschnitt aus dem Massenspektrum eines entsprechenden deprotonierten Quasi-Moleküls ($[M-H]^-$, m/z 672,6).

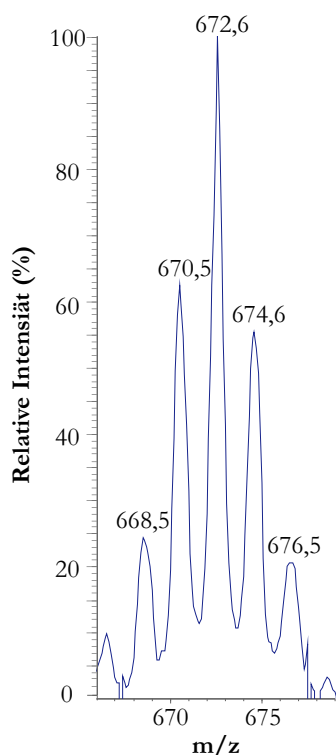


Abbildung 56: Massenspektrometrisches Isotopenmuster des deprotonierten Quasi-Moleküls von Dihydroxy-HBCD (m/z 660-680).

Auch in diesem Fall lässt das Verteilungsmuster der Isotopen auf ein Molekül mit sechs Brom-Atomen und die Differenz des m/z -Verhältnisses von 32 auf die Anwesenheit von zwei Hydroxyl-Gruppen im Molekül schließen. Weiterhin sind analog zu den Beobachtungen im Falle des Monohydroxy-HBCDs auch hier Adduktbildungen mit Essigsäure, Ameisensäure und Wasser zu beobachten. Um die Analytik der Dihydroxy-HBCD-Metabolite sensitiver durchführen zu können, wurde auch hier durch Direktinfusion mit einer Spritzenpumpe eine Optimierung der MS-Parameter für den Massenübergang m/z 672,6 \rightarrow 79,0 durchgeführt (Tabelle 19), unter deren Verwendung anschließend die jeweiligen chromatographischen Parameter für die eingesetzte HPLC-Säulenkopplung ermittelt wurden. Inkubationsansätze mit reinen α - und γ -HBCD-Enantiomeren wurden hierfür bezüglich des Vorkommens von dihydroxylierten Metaboliten untersucht (Abbildung 57). Die so ermittelten Verteilungsmuster der Dihydroxy-HBCDs sind erwartungsgemäß für jedes Enantiomer spezifisch. Im Vergleich zu den monohydroxylierten HBCD-Metaboliten eluieren die dihydroxylierten Verbindungen aufgrund der höheren Polarität deutlich früher. Im Mittel entstehen während der Inkubation mit induzierten Rattenlebermikrosomen zwischen drei und sechs Dihydroxy-HBCDs aus jedem α - und γ -HBCD. Aufgrund der großen Anzahl theoretisch möglicher Verbindungen ist es durchaus denkbar, dass auch hier Co-Elutionen und somit Maskierungen von Dihydroxy-HBCDs vorliegen. Soweit bekannt, wurde bislang lediglich in einer Expositionsstudie mit Wistar-Ratten von einem einzigen Dihydroxy-HBCD berichtet [227].

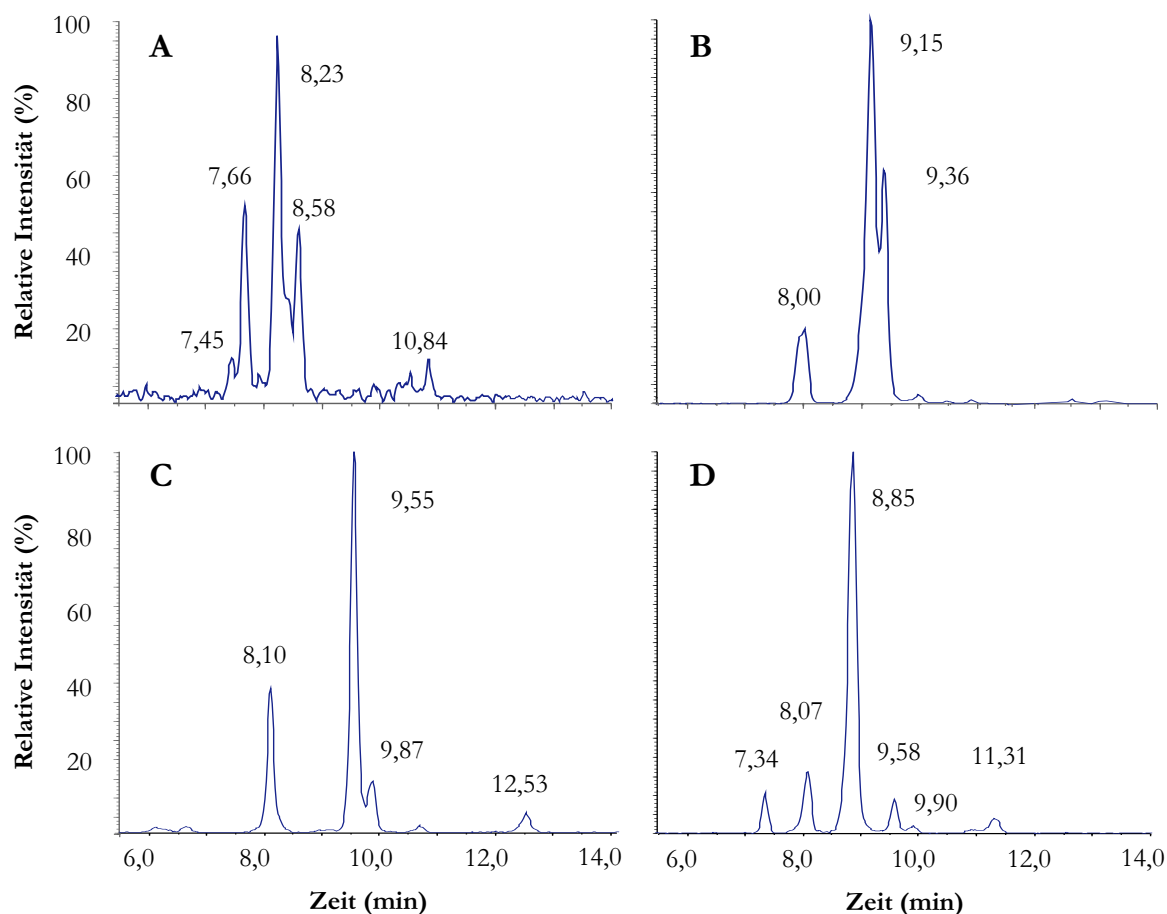


Abbildung 57: TIC der resultierenden Dihydroxy-HBCD-Metabolite, ausgehend von (-)- α - (A), (+)- α - (B), (+)- γ - (C) und (-)- γ -HBCD (D) nach mikrosomaler Inkubation.

Im Ergebnis der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen bezüglich des mikrosomalen HBCD-Abbaus ist es erstmals gelungen, neben den mono- auch dihydroxylierte Metabolite des HBCDs unter Verwendung der HPLC-MS(/MS) eindeutig zu identifizieren und dem jeweiligen „Ursprungs-Enantiomer“ zuzuordnen. Hierbei zeigen sowohl α - als auch γ -HBCD ein eindeutiges enantiomeren-spezifisches Verteilungsmuster von Mono- und Dihydroxy-HBCDs. Im Gegensatz dazu können für β -

HBCD keine hydroxylierten Abbauprodukte nachgewiesen werden. Obwohl, wie im vorangegangenen Kapitel 4.6.2 beschrieben, die β -HBCD-Enantiomere mit Halbwertszeiten von 6,32 bzw. 6,35 min von den drei Diastereomeren mit Abstand am schnellsten abgebaut werden, war es im Zuge der durchgeführten Untersuchungen nicht möglich, deren Verbleib aufzuklären. Ein möglicher Grund hierfür könnte sein, dass β -HBCD einem anderen Metabolisierungspfad unterliegt. Darüber hinaus waren die in der Literatur beschriebenen debromierten Abbauprodukte PBCD und TBCD [227] sowie Tetrabromcyclododecadien [63,162,164] nicht nachweisbar. Aus diesem Grund sollte die vollständige Aufklärung der Phase I-Metabolisierung von HBCD Gegenstand weiterführender Untersuchungen sein. Grundsätzlich werden die im Rahmen der Phase I-Biotransformation funktionalisierten Xenobiotika im Anschluss mittels gruppenspezifischer Transferasen (Glucuronyl-, Sulfo-, Glutathion-S- oder auch Acetyltransferase) konjugiert, um nachfolgend über die Gallenflüssigkeit oder den Urin (Hauptweg) ausgeschieden zu werden. Mit dem Ziel, potentielle Abbauprodukte des HBCDs durch *in vitro*-Glucuronidierung zu identifizieren, wurde im Rahmen dieser Arbeit ein kombinierter Ansatz an induzierten Rattenlebermikrosomen durchgeführt. Bei diesen Untersuchungen konnten jedoch keine glucuronisierten HBCD-Metabolite nachgewiesen werden. Da bislang die Informationslage hinsichtlich der abschließenden Metabolisierung und Ausscheidung von HBCD noch sehr lückenhaft ist, sollten zukünftige Untersuchungen einen stärkeren Fokus u. a. auf den Phase II-Metabolismus legen.

4.6.4 Nachweis hydroxylierter HBCD-Metabolite in Biota

Die Untersuchung von Biotaprobe auf Belastungen mit hydroxylierten HBCD-Metaboliten erfolgte anhand von aufgereinigten, bereits für die Analyse von HBCD-Kontaminationen verwendeten Leber- und Muskelgewebeextrakten von Seelachs und Makrele des norwegischen Eikelfjords sowie von Silbermöweneiern der Deutschen Küste (Kapitel 4.3 und 4.4). Die HPLC-MS/MS-Analysen erfolgten im SRM-Modus unter Verwendung der optimierten MS-Parameter für die Massenübergänge der Mono- und Dihydroxy-HBCDs (m/z 656,7 \rightarrow 79,0; m/z 672,6 \rightarrow 79,0). In Abbildung 58 ist ein entsprechendes SRM-Chromatogramm eines aufgereinigten Seelachsleber-Extraktes dargestellt, in welchem mehrere Monohydroxy-HBCDs detektiert werden konnten.

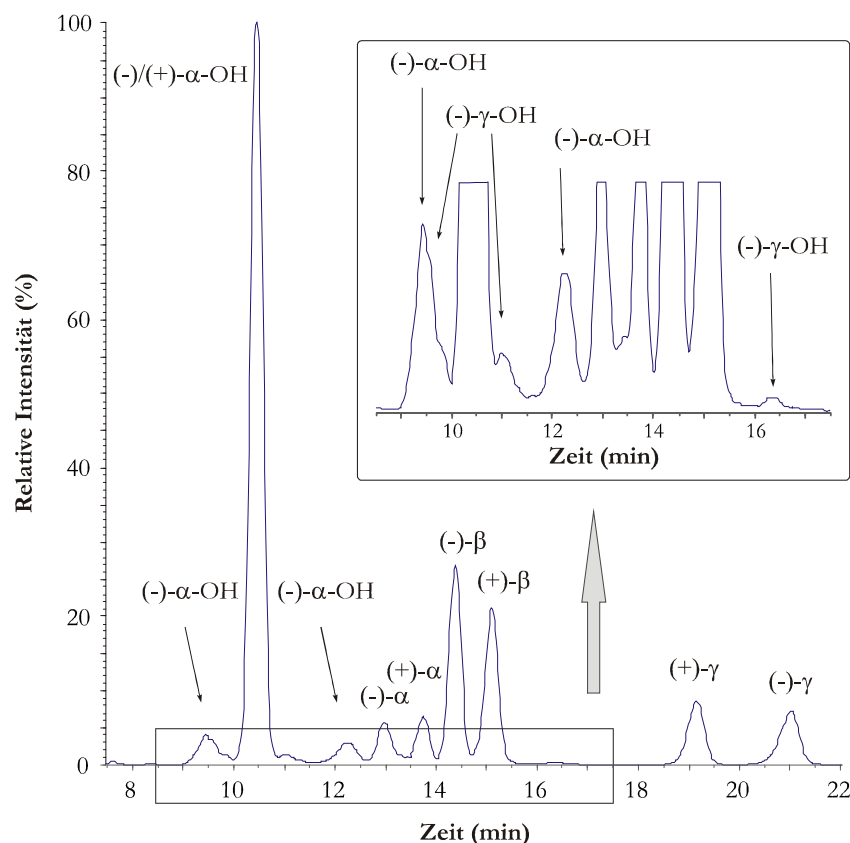


Abbildung 58: SRM-Chromatogramm (m/z 656,7 \rightarrow 79,0) der monohydroxylierten HBCD-Metabolite eines aufgereinigten Seelachsleber-Extraktes.

Da die analysierten Extrakte für die Quantifizierung der HBCD-Enantiomere mit internem Standard ($^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD) versetzt wurden, kommt es zu einer Überlagerung eines Signals des Isotopenmusters von $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD (m/z des Quasimoleküls $[\text{M}-\text{H}]^-$ von 652,6) mit dem Massenübergang der monohydroxylierten HBCDs (m/z 656,7 \rightarrow 79,0, Kapitel 4.6.3), sodass für beide Moleküle der gleiche Übergang zu beobachten ist. Durch einen Retentionszeiten-Vergleich ist es dennoch möglich, eine eindeutige Zuordnung der Verbindungen durchzuführen. Eine Ausnahme ist hierbei ein Monohydroxy-HBCD, welches aus (+)- γ -HBCD mit einer Retentionszeit von 14,48 min aus der mikrosomalen Inkubation hervorgeht und zeitgleich mit ($^{13}\text{C}_{12}$)-(-)- β -HBCD eluiert, sodass eine Identifizierung dieses Abbauproduktes in diesen Ansätzen nicht möglich war. Im dargestellten SRM-Chromatogramm sind zunächst drei Signale der Monohydroxy-Metabolite des α -HBCDs mit Retentionszeiten von 9,06, 10,20 und 12,00 min zu erkennen. Darüber hinaus sind weniger ausgeprägte Signale weiterer Monohydroxy-Metabolite des γ -HBCD sichtbar. Schlussendlich konnten somit, mit Ausnahme des bereits erwähnten (+)- γ -HBCD-Abbauproduktes mit $t_R = 14,48$ min, alle anderen Monohydroxy-HBCDs eindeutig identifiziert und zugeordnet werden.

Die Analyse der verbleibenden Probenextrakte von Makrelenfilet und Silbermöweneier zeigt ein vergleichbares Bild, wie aus Tabelle 43 zu entnehmen ist. Alle untersuchten Proben weisen ein deutliches Signal von (-)/(+)- α -Monohydroxy-HBCD mit einer Retentionszeit von 10,20 min und ein schwaches Signal von (-)- γ -Monohydroxy-HBCD mit einer Retentionszeit von 16,10 min auf.

Tabelle 43: Positive Befunde von Hydroxy-HBCDs in ausgewählten Biotaprobe.

Metabolit	t_R (min)	Makrele		Seelachs		Silbermöweneier		
		Filet	Leber	Filet	Leber	Heuwiese	Trischen	Mellum
(-)- α -OH	9,06				✓			
(-)- γ -OH	9,30				✓			
(-)- α -OH/ (+)- α -OH	10,20	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
(-)- γ -OH	10,90	✓	✓		✓	✓	✓	✓
(+)- γ -OH	11,67				✓			
(-)- α -OH	12,00				✓			
(+)- γ -OH	14,48							
(-)- γ -OH	16,10		✓		✓	✓	✓	

Bei der Untersuchung des Seelachs-Muskelfleisches, welches die geringste HBCD-Belastung aufwies, kann lediglich das Signal für (-)/(+)- α -Monohydroxy-HBCD bei 10,20 min detektiert werden. Offensichtlich ähneln die Verteilungsmuster der untersuchten Monohydroxy-HBCDs in Biota weitestgehend denen der *in vitro*-Modelle mit induzierten Rattenlebermikrosomen, wobei die α -Monohydroxy-HBCDs die intensivsten Signale in den Biotaprobe darstellen. Durch diverse Studien [48,112,132,145] sowie eigene Untersuchungen von Silbermöweneiern (Kapitel 4.3), die eine deutliche Dominanz der α -HBCD- gegenüber den γ -HBCD-Gehalten zeigten, finden diese Beobachtungen Bestätigung. Daraus kann geschlossen werden, dass überwiegend α -HBCD zu den entsprechenden Abbauprodukten metabolisiert wird, welche wiederum das Verteilungsmuster dominieren. Durch weiterführende Untersuchungen von Gewebeprobe (Muskelfleisch und Leber) von Karpfen, die mit enantiomerenreinem (\pm)- γ -HBCD gefüttert wurden (Kapitel 4.5), wird diese Hypothese weiter untermauert. Entsprechend der jeweiligen (+)- oder (-)- γ -HBCD-Exposition war es in den resultierenden HPLC-MS/MS-Chromatogrammen möglich, eine Intensitätssteigerung der jeweilig korrespondierenden (+)- oder (-)- γ -Monohydroxy-HBCD-Metabolite zu beobachten. Da bislang keine vergleichbaren Studien hinsichtlich der Untersuchung der in Biota gebildeten Hydroxy-Metabolite von HBCD sowie deren Zuordnung zu den entsprechenden HBCD-Isomeren vorliegen, ist es nicht möglich, eine vergleichende Diskussion anhand von Literaturdaten vorzunehmen. Neben den deutlich dominierenden α -Monohydroxy-HBCD-Signalen sind in Extrakten der Seelachsleber zwei schwache Dihydroxy-HBCD-Signale mit Retentionszeiten ähnlich von (+)- γ -

($t_R = 12,53$ min) und (-)- γ -Dihydroxy-HBCD ($t_R = 11,31$ min) der *in vitro*-Experimente zu beobachten. Darüber hinaus konnten weder TBCD- noch PBCD-Metabolite nachgewiesen werden. Besondere Aufmerksamkeit erweckte allerdings ein Signal mit m/z 650,6, welches 90 Masseneinheiten größer ist als PBCD und dessen Bromisotopenmuster einen Hinweis auf fünf Brom-Atome im Molekül gibt. Eine Aufklärung der Struktur dieser Verbindung konnte zum Zeitpunkt der Untersuchungen noch nicht direkt durchgeführt werden, erfolgte jedoch anhand der nachfolgend vorgestellten Untersuchungen (Kapitel 4.6.5).

Die in der Fachliteratur kontrovers diskutierte Hypothese, dass die Verschiebung des HBCD-Diastereomerenmusters von einem dominierenden γ -HBCD im technischen Gemisch oder in Sedimenten hin zu vorherrschenden α -HBCD-Gehalten in den meisten Biota auf metabolische Mechanismen bzw. Prozesse zurückzuführen ist, kann durch die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen nicht bestätigt werden. Der präferenzielle Stoffwechsel von γ -HBCD kann insofern ausgeschlossen werden, da weder eine daraus resultierende Dominanz der γ -Monohydroxy-HBCD-Metabolite in den untersuchten Probenmaterialien (Silbermöwenei, Makrele und Seelachs), noch das Auftreten von Phase II-Metaboliten (u. a. Glucuronide) beobachtet werden konnte. Es liegt daher nahe, dass andere Prozesse als die des Phase I-Metabolismus eine ausschlaggebendere Rolle in diesem Sachverhalt spielen.

4.6.5 Untersuchungen unter Verwendung weiterer Lebermikrosomen

Die bisher vorgestellten *in vitro*-Untersuchungen erfolgten unter Verwendung von induzierten Lebermikrosomen der SD-Ratte. Durch vorherige Behandlung der Tiere mit Enzyminduktoren (bspw. mit Phenobarbital) werden die mikrosomalen mischfunktionellen Oxygenierungsreaktionen verschiedener Substrate stimuliert, sodass evtl. auftretende Metabolisierungsprozesse begünstigt werden. Um einen möglichst umfangreichen Überblick über vorkommende Phase I-Metabolite des HBCDs nach einer *in vitro*-Inkubation von Lebermikrosomen zu erhalten, wurden weiterführende Untersuchungen an nicht-induzierten Lebermikrosomen diverser Rattenspezies (DS-Ratte, Wistar-Ratte und Lewis-Ratte) sowie an Humanlebermikrosomen durchgeführt. Nicht zuletzt aufgrund der Anzahl der veröffentlichten Studien liegt ein besonderer Fokus wissenschaftlicher Untersuchungen auf der HBCD-Belastung bzw. dem vorkommenden Isomeren-Verteilungsmuster in aquatischen Biota. Daher stellen in dieser Studie die Phase I-Prozesse in entsprechenden Organismen einen weiteren wichtigen Aspekt dar. Da Lebermikrosomen von Fischen derzeit kommerziell nicht erhältlich sind, wurden diese für je eine Raub- sowie eine Friedfischspezies an der BAM eigens isoliert. Die Unterscheidung zwischen Fried- und Raubfisch liegt in der bereits in Kapitel 2.7.3 diskutierten Abhängigkeit der Diastereomeren-Verteilung in Biota von der Ernährung der einzelnen Spezies begründet, weshalb Friedfische im Mittel einen geringeren Anteil an α - und einen entsprechend höheren Anteil an γ -HBCD aufweisen als Raubfische. Um evtl. Einflüsse seitens der Phase I-Metabolisierung zu untersuchen, wurden daher Inkubationsversuche unter Verwendung von Lebermikrosomen des Spiegelkarpfens (Friedfisch) sowie der Regenbogenforelle (Raubfisch) durchgeführt.

Eine von Huhtala *et al.* veröffentlichte *in vitro*-Studie mit diastereomerenreinem HBCD an Regenbogenforellen zeigte Hinweise auf die Bildung monohydroxylierter Metabolite aus γ -HBCD [93]. Darüber hinaus wurden unter Einsatz von Seehundlebermikrosomen weitere Monohydroxy-HBCD-Metabolite nachgewiesen [137]. Ergebnisse von Inkubationen mit Human- oder Karpfenlebermikrosomen wurden bislang nicht publiziert. Abbildung 59 zeigt die Monohydroxy-HBCD-Verteilungsmuster, welche nach Inkubation von diastereomerenreinem α -, β - und γ -HBCD mit Forellenlebermikrosomen mittels HPLC-MS/MS (m/z 656,7 \rightarrow 79,0) aufgenommen wurden. Im Gegensatz zu den Ansätzen mit induzierten Rattenlebermikrosomen sind in diesem Fall auch nach Inkubation von β -HBCD deutliche Signale mehrerer monohydroxylierter HBCDs zu erkennen. Ansonsten scheint das Monohydroxy-HBCD-Verteilungsmuster, hervorgehend aus der Inkubation von α -HBCD, dem der Inkubation mit induzierten Rattenlebermikrosomen (Abbildung 53) sehr zu ähneln.

In Tabelle 44 sind die identifizierten Monohydroxy-HBCD-Signale mit den entsprechenden Retentionszeiten zusammengestellt, um einen direkten Vergleich der eingesetzten Mikrosomen zu ermöglichen. Bei

der Inkubation von α -HBCD können bei allen eingesetzten Mikrosomen stets dieselben monohydroxylierten Metabolite mit nahezu identischen relativen Verteilungsmustern nachgewiesen werden. In allen Fällen wird die Isomeren-Verteilung durch die co-eluierenden α -Monohydroxy-HBCDs ($t_R = 10,20$ min) dominiert.

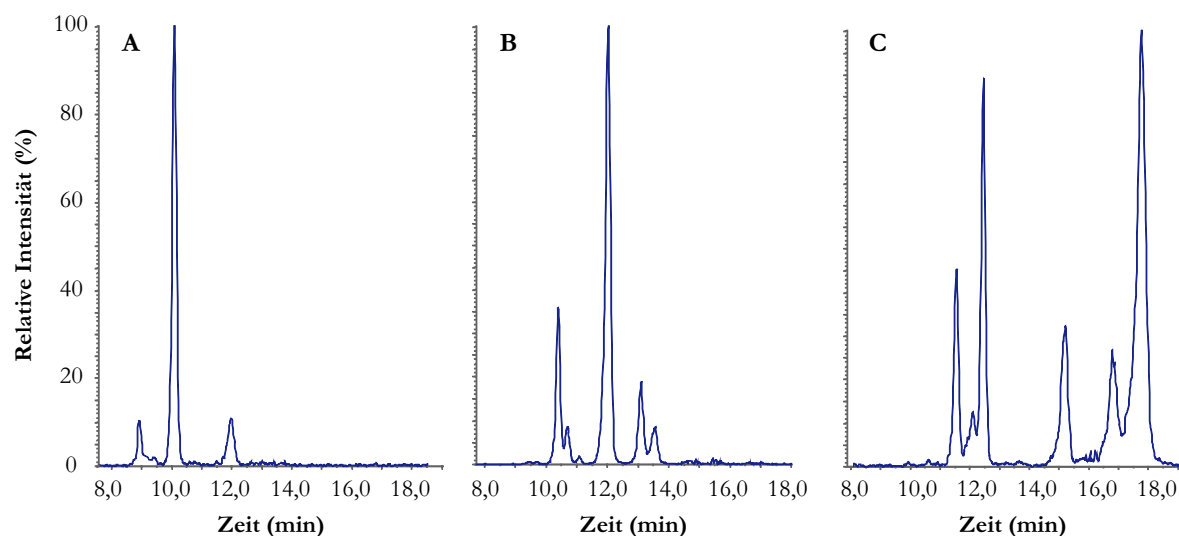


Abbildung 59: SRM-Chromatogramm von Monohydroxy-HBCDs (m/z 656,7 \rightarrow 79,0) nach mikrosomaler Inkubation von diastereomerenreinem α - (A), β - (B) und γ -HBCD (C) mit Forellenlebermikrosomen.

Wie zuvor erwähnt, konnte aufgrund fehlender Standardsubstanzen weder eine Quantifizierung noch eine Aussage über die Responsefaktoren getroffen werden. Tabelle 44 zeigt, dass, mit Ausnahme der induzierten SD-Rattenlebermikrosomen, bei allen verwendeten Mikrosomen die Bildung von Metaboliten aus β -HBCD festzustellen ist. Durch die Induktion der Mikrosomen könnte einhergehend mit der Aktivierung auch eine Inhibierung bestimmter enzymkatalysierter Metabolisierungsprozesse erfolgen, sodass abweichende Verteilungsmuster resultieren. Ein Vergleich der gebildeten Monohydroxy-HBCDs nach mikrosomaler Inkubation mit nicht-induzierten SD-Rattenlebermikrosomen verdeutlicht diese Hypothese. Neben der Bildung von β -Monohydroxy-HBCDs ergibt sich im Falle von (+)- und (-)- γ -HBCD (unter Berücksichtigung einer Retentionszeitverschiebung) ein gänzlich verschiedenes Verteilungsmuster der Metabolite. Einige Metabolite des (-)- γ -HBCD (t_R : 9,30, 10,90 und 16,1 min) sowie des (+)- γ -HBCD ($t_R = 14,48$ min) waren bei der Verwendung nicht-induzierter Mikrosomen nicht nachweisbar, was durch die geringere Aktivierung der Mikrosomen erklärt werden kann.

Tabelle 44: Nachweis von Monohydroxy-HBCDs im Rahmen der mikrosomalen Inkubation unter Verwendung verschiedener Lebermikrosomen sowie der HPLC-MS/MS (m/z 656,7 \rightarrow 79,0).

HBCD Metabolit	t_R (min)	ind. SD-Ratte	nicht ind. SD-Ratte ^a	Wistar-Ratte ^a	Lewis-Ratte ^a	Human ^a	Karpfen	Forelle
(-)- α -OH	9,06	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	10,20	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	12,03	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
(+)- α -OH	10,20	✓	a	a	a	a	✓	✓
(±)- β -OH	10,39			✓	✓	✓	✓	✓
	10,70		✓	✓	✓	✓	✓	✓
	10,97		✓	✓	✓	✓		
	12,03						✓	✓
	13,10		✓	✓	✓	✓	✓	✓
	13,57		✓	✓	✓	✓	✓	✓

HBCD Metabolit	t _R (min)	ind. SD-Ratte	nicht ind. SD-Ratte ^a	Wistar-Ratte ^a	Lewis-Ratte ^a	Human ^a	Karpfen	Forelle
(+) - γ -OH	11,32		✓				✓	✓
	11,67	✓	✓					
	12,22		✓	✓	✓	✓	✓	✓
	14,48	✓						
	15,04						✓	✓
(-) - γ -OH	9,30	✓						
	10,9	✓						
	16,10	✓						
	16,67		✓	✓	✓		✓	✓
	17,65						✓	✓

^a Untersuchungen erfolgten an reinen HBCD-Diastereomeren

Ein einheitliches Bild ergibt sich hingegen bei der Betrachtung der Wistar- und Lewis-Rattenlebermikrosomen. In diesen Fällen wurden für alle drei Diastereomere die gleichen monohydroxylierten Metabolite identifiziert. Ähnliches gilt für die Beobachtungen bei den Karpfen- und Forellenlebermikrosomen. Auch diese zeigen die gleiche Verteilung, wenngleich sie sich vom Muster der aus Rattenlebern isolierten Mikrosomen an einigen Stellen unterscheiden. Unterschiede zwischen den Fischlebermikrosomen sind lediglich in den Intensitäten der Signale zu sehen, welche vermutlich auf die geringeren Cytochromgehalte der isolierten Karpfenlebermikrosomen zurückzuführen sind (Kapitel 4.6.1.2). Basierend auf diesen Beobachtungen kann somit die Hypothese aufgestellt werden, dass die festgestellten verschiedenen Verteilungsmuster der HBCD-Diastereomeren von Fried- und Raubfischen (siehe Kapitel 2.7.3) am Beispiel der beiden Süßwasserspezies Siegelkarpfen und Regenbogenforelle nicht auf unterschiedlichen Metabolisierungsprozessen im Rahmen der Phase I-Reaktionen beruhen. Bereits vorherige Untersuchungen haben gezeigt, dass der Einsatz von Mikrosomen verschiedener Tierspezies mit einem Nachweis unterschiedlicher Metabolite aufgrund verschiedener Metabolisierungspfade einhergeht [357].

Darüber hinaus ist bemerkenswert, dass die Humanlebermikrosomen weitestgehend ähnliche HBCD-Metabolite wie die Rattenlebermikrosomen aufweisen, mit der Ausnahme, dass lediglich ein γ -Monohydroxy-HBCD nachgewiesen werden konnte. Die genauere Analyse der einzelnen Massenspektren ergab bei den Human- sowie Lewis-Rattenlebermikrosomen Hinweise auf einen weiteren Metaboliten, welcher sich im Rahmen des Inkubationsansatzes mit γ -HBCD gebildet haben muss und dessen Auftreten bereits bei den Full-Scan Untersuchungen der Silbermöweneier beobachtet wurde (Kapitel 4.3). Ein MS-Full-Scan ergab ein Molekülion (Abbildung 60), dessen Isotopenverteilungsmuster im Gegensatz zu den bisherigen hydroxylierten Metaboliten auf eine Verbindung mit fünf Brom-Atomen hindeutet. Mit dem intensivsten Signal bei m/z 650,6 liegt dessen Masse zehn Einheiten über der des HBCDs sowie 90 Einheiten über der des PBCDs. Eine mögliche Dehydrohalogenierung wurde im Rahmen des Phase I-Metabolismus bereits am Beispiel des Insektizids HCH beschrieben [358,359], sodass auch im Falle des HBCDs dieser Metabolisierungsprozess durchaus plausibel erscheint. Eine weitere Auffälligkeit besteht in der deutlich früheren Elution dieser Verbindung ($t_R = 10,35$ min) im Vergleich zu den meisten γ -Monohydroxy-HBCDs, was auf eine nochmals erhöhte Polarität des Moleküls schließen lässt.

Da aufgrund der geringen Konzentrationen eine weitergehende Charakterisierung der Verbindung nicht möglich war, ist die chemische Struktur der Verbindung nur bedingt erklärbar. γ -HBCD könnte im Rahmen der Metabolisierung einer Dehydrobromierung sowie einer zweifachen Hydroxylierung unter Bildung eines Dihydroxy-PBCDs ($C_{12}H_{17}Br_5O_2$; m/z 592,8) unterliegen. Brandsma *et al.* konnten diese Verbindung bereits in Studien an mit HBCD exponierten Wistar-Ratten erfolgreich nachweisen [227]. Die verbleibende Massendifferenz wäre durch eine sich an eine Epoxidierung der Doppelbindung anschlies-

sende hydrolytische Ringöffnung erklärbar. Ein solcher Vorgang wurde bereits an anderen Xenobiotika im Zuge der Phase I-Metabolisierung gezeigt [360,361].

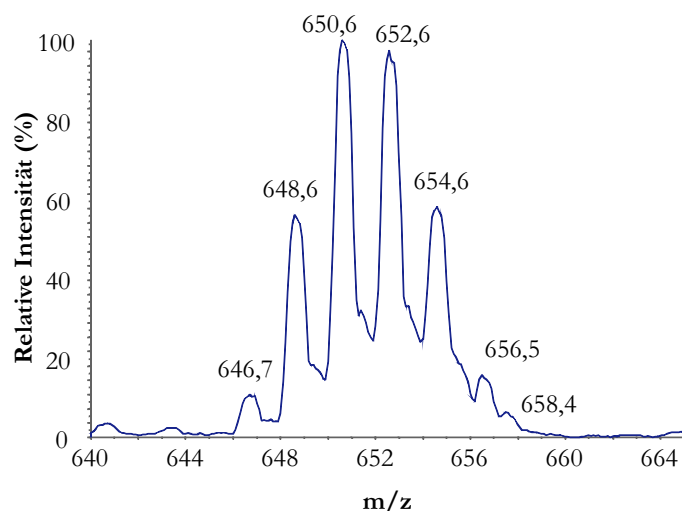


Abbildung 60: Isotopenverteilungsmuster eines potentiellen HBCD-Metaboliten nach Inkubation von γ -HBCD mit Humanlebermikrosomen.

Im Anschluss müssten die vier eingeführten Hydroxylgruppen der aliphatischen Verbindung unter Bildung von zwei Carboxyl- sowie zwei Ketogruppen oxidiert werden, um letztlich eine Molekülmasse von 651,7 zu ergeben. Die hier postulierten Oxidationsreaktionen stellen typische Metabolisierungswege am Cytochrom P450 dar und wurden in der Literatur an anderen Xenobiotika hinreichend beschrieben [353,362-364]. In Abbildung 61 ist der mögliche Reaktionsweg im Verlauf der Metabolisierung schematisch dargestellt, in dessen Ergebnis eine Verbindung mit einer Molekülmasse von 651,66 (Summenformel: $C_{12}H_{13}Br_5O_6$) und einem der Abbildung 60 entsprechenden Brom-Isotopenverteilungsmuster resultieren würde. Unter Berücksichtigung des negativen Ionisierungsmodus entspräche die Verbindung dem im Full-Scan mittels HPLC-MS identifizierten Signal.

Wie bereits im vorherigen Kapitel erwähnt, wurde das beschriebene Signal bereits in Silbermöneneiern nachgewiesen. Erneute Messungen dieser Extrakte (nach deren Lagerung über einige Wochen bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) konnten allerdings diese Beobachtung nicht mehr bestätigen. Da es sich bei den Extrakten um methanolische Lösungen handelte und die Vermutung hinsichtlich einer zweifach carboxylierten aliphatischen Verbindung bestand, lag der Verdacht nahe, dass die Carboxylgruppen im Laufe der Lagerung einer Veresterung unterlagen und aus diesem Grund die eigentliche Verbindung nicht mehr nachweisbar war. Erwartungsgemäß konnte ein Signal identifiziert werden, welches einen m/z -Wert von 578,8 und somit 28 Einheiten (entspricht zwei CH_2 -Gruppen) mehr aufwies. Die Hypothese einer möglichen Veresterung der beiden Carboxylgruppen kann somit untermauert werden und erhärtet den Verdacht auf die Bildung eines Metaboliten mit der in Abbildung 61 postulierten Struktur. Obwohl von einem derartigen Metabolisierungsprozess bislang noch nicht berichtet wurde, sprechen diese Beobachtungen für einen aliphatischen γ -HBCD-Metaboliten. In weiterführenden Untersuchungen, u. a. unter Verwendung der hochauflösenden Massenspektrometrie, sollten allerdings diese hier vorgestellten Bildungswege genauer analysiert werden.

Analog der Untersuchung der Inkubationsansätze mit induzierten Rattenlebermikrosomen erfolgte auch mit den restlichen Lebermikrosomen die Analyse hinsichtlich potentiell auftretender dihydroxylierter HBCD-Metabolite. Aus Tabelle 45 sind die Verteilungsmuster der identifizierten unterschiedlichen Metabolite nach diastereomerspezifischer Inkubation zu entnehmen. Hieraus ergeben sich sowohl für die nicht-induzierten SD- als auch für die Wistar-Rattenlebermikrosomen recht ähnliche Verteilungsmuster, welche sich, u. a. vermutlich bedingt durch die geringere Cytochromaktivität von den induzierten Mikrosomen darin unterscheiden, dass einige Metabolite aufgrund ihrer geringen Signal-Intensität nicht identifiziert werden konnten. Im Gegensatz dazu wiesen die Lewis-Ratten- und Humanlebermikrosomen keinerlei γ -Dihydroxy-HBCDs auf. Durch diesen Befund wird die Hypothese gestützt, dass bei diesen beiden Spezies anstelle der Dihydroxylierung im Rahmen des Phase I-

Metabolismus im Vergleich zu den anderen untersuchten Lebermikrosomen andere Prozesse am Cytochrom P450 ablaufen, welche die Bildung der oben postulierten Verbindung zur Folge haben könnten. Im Falle der Fischlebermikrosomen konnten keine Dihydroxy-Metabolite nachgewiesen werden. Gründe hierfür könnten ebenfalls die geringen Cytochromaktivitäten und/oder andere Metabolisierungspfade in diesen Spezies sein. Um auch hier umfassendere Informationen zu erhalten, wären weiterführende Untersuchungen hinsichtlich der Abbaukinetik notwendig.

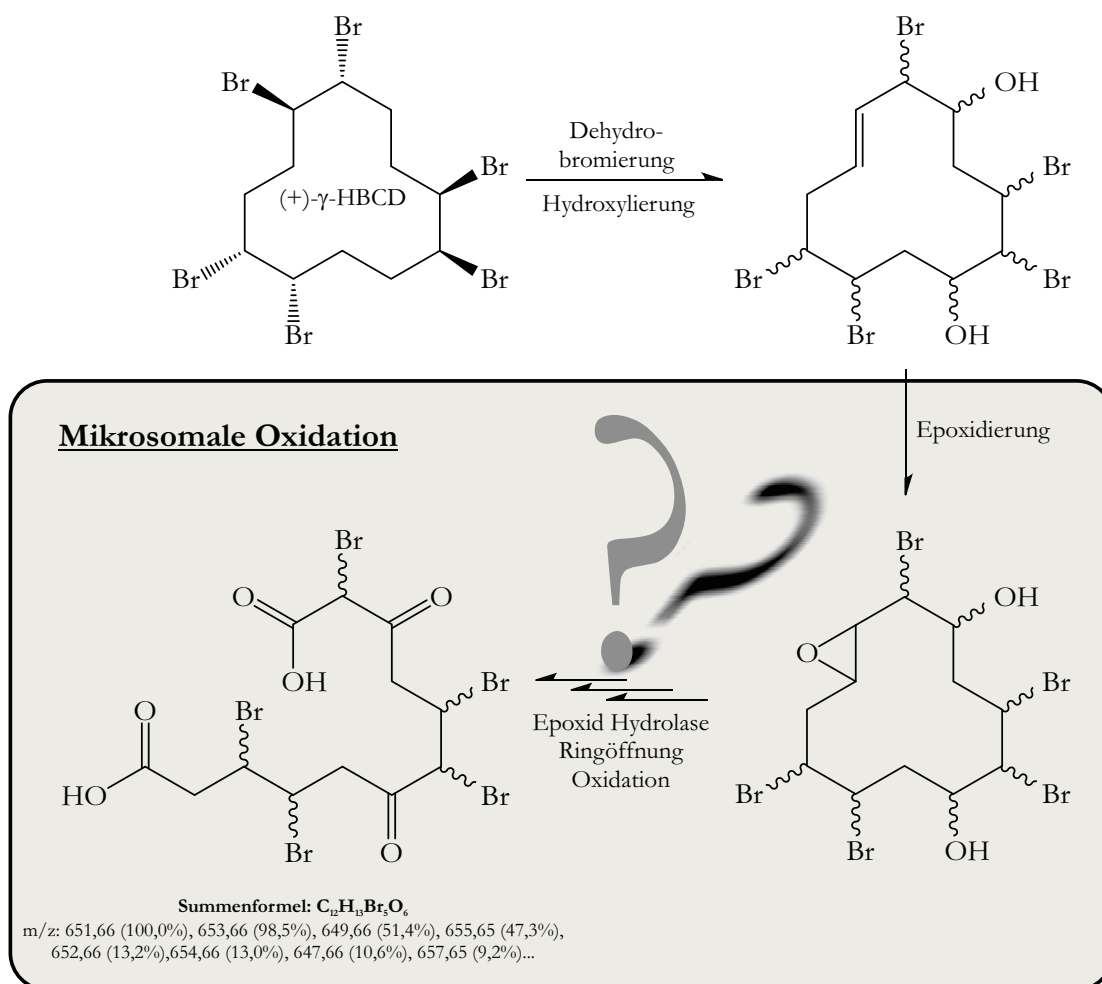


Abbildung 61: Hypothetischer Reaktionsverlauf der Metabolisierung von γ -HBCD zu 2,5,6,9,10-Pentabrom-3,7-dioxododecandisäure (Summenformel: $C_{12}H_{13}Br_5O_6$) nach Inkubation mit Human- bzw. Lewis-Rattenlebermikrosomen.

Tabelle 45: Auftreten von Dihydroxy-HBCDs im Rahmen der Inkubation unter Verwendung unterschiedlicher Lebermikrosomen.

Metabolit	t_R (min)	ind. SD Ratte ^a	nicht ind. SD Ratte ^a	Wistar Ratte ^a	Lewis Ratte ^a	Human ^a	Fisch ^b
(±)- α -Di-OH	7,45	✓					
	7,66	✓	✓	✓			
	8,00	✓					
	8,23	✓					
	8,58	✓	✓	✓	✓		
	9,15	✓	✓	✓	✓		
	9,36	✓	✓	✓			

Metabolit	t _R (min)	ind. SD Ratte ^a	nicht ind. SD Ratte ^a	Wistar Ratte ^a	Lewis Ratte ^a	Human ^a	Fisch ^b
(±)-β-Di-OH	7,51		✓	✓	✓	✓	
	8,16		✓	✓	✓	✓	
	9,16		✓	✓	✓	✓	
	10,59		✓	✓	✓	✓	
(±)-γ-Di-OH	7,34	✓	✓	✓			
	8,10	✓	✓	✓			
	8,85	✓	✓	✓			
	9,60	✓		✓			
	9,87	✓		✓			
	12,53	✓		✓			

^a Untersuchungen erfolgten an reinen Diastereomeren

^b Untersuchungen erfolgten an Lebermikrosomen von Spiegelkarpfen und von Regenbogenforellen

Abschließend wurden die ermittelten chromatographischen Daten auf eine mögliche Bildung dehydrohalogener bzw. dehalogener Verbindungen (TBCD und PBCD) untersucht, welche allerdings nicht nachgewiesen werden konnten. Daher ist davon auszugehen, dass im Rahmen des mikrosomalen Ansatzes zur Metabolisierung von HBCD diese Verbindungen nicht in signifikanten Mengen gebildet werden und somit die in der Literatur beschriebenen Vorkommen einen anderen Ursprung haben müssen.

4.6.6 Experimentelle und theoretische Untersuchungen der Phase I-Funktionalisierung an ausgewählten Cytochromen

In den vorangegangenen Kapiteln konnte gezeigt werden, dass HBCD einem mikrosomalen Abbau im Rahmen einer Phase I-Funktionalisierung unterliegt und hierbei verschiedene mono- und dihydroxylierte Metabolite gebildet werden. Die beschriebenen Untersuchungen fanden unter Verwendung von Lebermikrosomen verschiedener Tierspezies (Säugetiere und Fisch) sowie vom Menschen statt, welche die für die Reaktion verantwortlichen Cytochrom P450-Multienzymkomplexe enthalten. Hierbei handelt es sich um Enzyme, bestehend aus einer Familie mehrerer hundert Isoformen, die sich in ihrer Aminosäuresequenz mehr oder weniger unterscheiden. Daher war es mit den bislang durchgeführten Studien nicht möglich, eine für den Metabolismus von HBCD verantwortliche CYP-Isoform zu identifizieren. Um diesen Vorgang genauer zu untersuchen, wurden Versuche an reinen CYP-Isoformen unter Verwendung von diastereomeren- und enantiomerenreinem α-, β- und γ-HBCD durchgeführt.

Parallel zu den praktischen Untersuchungen einzelner CYP-Isoformen sollten im Rahmen eines kooperativen Projektes mit dem Konrad-Zuse-Institut Berlin (ZIB) die Bindungsaffinitäten der Stereoisomere von α- und γ-HBCD zu den Bindungstaschen relevanter Cytochrome simuliert werden. Das Hauptaugenmerk der Arbeiten lag hierbei auf der Klärung der Frage, ob die simulierten Bindungsaffinitäten bzw. die relativen Absorption-Desorptions-Raten der Wirt-Gast-Interaktionen mit den experimentellen Daten korrelieren.

Auf Basis bisheriger Studienergebnisse, welche von Induktionen einiger Isoformen der CYP-Familien 3A sowie 1A berichteten, lag ein besonderes Augenmerk auf diesen Enzymen. Darüber hinaus wurden für die Untersuchungen weitere Kristallstrukturen ausgewählter Cytochrome (Tabelle 20) in der PDB [365] identifiziert und, wenn kommerziell verfügbar, durch experimentelle Ansätze praktisch untersucht. Parallel dazu wurden die Strukturen am ZIB analysiert und hinsichtlich der Beschaffenheit der Bindungstaschen miteinander verglichen. Unterschiedliche repräsentative Bindungstaschen wurden aus den 3D-Daten extrahiert und für eine Computersimulation präpariert. Für die durchgeführten Untersuchungen war die Verfügbarkeit sowohl der Kristallstrukturen in der PDB als auch die der reinen CYP-Isoformen zur

experimentellen Analyse ein limitierender Faktor. So waren bspw. für das CYP1A1, welches ebenfalls Bestandteil bisheriger Untersuchungen war [228], keine Strukturdaten in der PDB verfügbar, weshalb es im Rahmen der mathematischen Simulationen nicht weiter berücksichtigt werden konnte.

Nach Vorbereitung der Kristallstrukturdaten der einzelnen CYP-Isoformen erfolgten in einem zweiten Schritt die Modellierung der Konformerenräume der einzelnen HBCD-Stereoisomere und das anschließende Docking an die aktiven Bindungstaschen der CYPs. Die gedockte Struktur entspricht dabei nur einer möglichen HBCD-Cytochrom-Interaktion und erlaubt noch keine thermodynamische Interpretation (Abbildung 62). Wie in den vorherigen Kapiteln anhand der HBCD-Gehalte in den Silbermöweneiern sowie der *in vitro*-Untersuchungen an induzierten Rattenlebermikrosomen gezeigt wurde, spielt das β -HBCD in Biota keine relevante Rolle. Daher standen ausschließlich die vier α - und γ -HBCD-Stereoisomere in den nachfolgend präsentierten mathematischen Simulationen im Fokus.

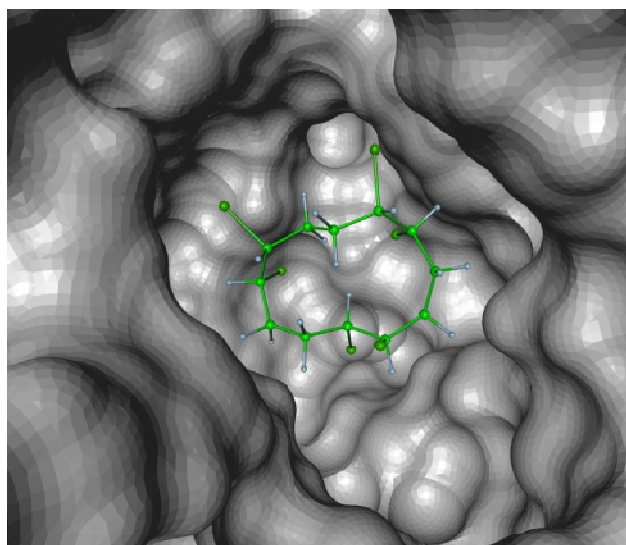


Abbildung 62: Darstellung der im Rahmen von Docking-Experimenten simulierten Bindung von (-)- α -HBCD in der Bindungstasche des Cytochrom 3A4 (grau unterlegt).

Das Docking der vier HBCD-Stereoisomere als Liganden an die jeweilige CYP-Struktur wurde semi-flexibel unter Verwendung der FADO-Prozedur durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 46 in Bezug auf die potentiellen Energien als Summe der Lennard-Jones- und Coulomb-Potentiale der günstigsten Ausrichtung der jeweiligen HBCD-Liganden an der aktiven Stelle des Cytochroms dargestellt.

Tabelle 46: Semi-flexibles Docking der α - und γ -HBCD-Stereoisomere mit der aktiven Tasche der jeweiligen Cytochrome. Angaben in potentieller Energie (kJ mol⁻¹) als Summe der Lennard-Jones- und Coulomb-Potentiale.

Cytochrom-Isoform (PDB-Eintrag)	CYP1A2 (2HI4)	CYP2B6 (3IBD)	CYP2B4 (1PO5)	CYP3A4 (1TQN)	CYP3A4 (1WOE)	CYP3A4 (2JOD)
PDB Ligand ^a	-145 ^b	-44 ^c	-	-	-	-74 ^d
(-)- α -HBCD	237	294	-41	-65	-96	-33
(+)- α -HBCD	322	685	-74	-28	-80	-65
(-)- γ -HBCD	215	217	-73	-42	-112	-96
(+)- γ -HBCD	277	233	-99	-14	-124	-73

^a Co-kristallisierter Ligand in der PDB Struktur; ^b α -Naphthoflavin; ^c 4-(4-Chlorphenyl)imidazol; ^d Erythromycin

Diese lassen darauf schließen, dass die HBCD-Stereoisomere am besten in die aktive Tasche des CYP3A4 (2JOD) passen, dessen potentielle Energie in etwa die gleichen Werte ergaben wie die des co-kristallisierten Ligands der PDB, Erythromycin. Die anderen beiden CYP3A4-Strukturen weisen ebenfalls geringe potentielle Energien auf, wohingegen für CYP1A2 keine Übereinstimmung gefunden werden konnte. Die berechneten Energien für CYP2B6 stimmen mit denen des CYP1A2 überein, wobei das

strukturell ähnliche CYP2B4 wiederum negative Energien aufweist, was auf eine günstige Position der HBCD-Stereoisomere in der aktiven Tasche schließen lässt. Die Beobachtung korreliert mit *in vivo*-Untersuchungen an unspezifizierten Cytochromen der 2B-Unterfamilie [228] und bestätigt die Richtigkeit des hier verwendeten mathematischen Dockingansatzes.

Anhand dieser Ergebnisse kann somit geschlussfolgert werden, dass CYP3A4 im Gegensatz zu den weiteren untersuchten Cytochromen strukturell geeignet ist, die α - und γ -HBCD-Stereoisomere zu binden. In praktischen Inkubationsansätzen würde dieser Befund seine Bestätigung erfahren, wenn die HBCD-Gehalte unter Verwendung von CYP3A4 im Vergleich zu anderen Cytochromen signifikant abnehmen und ggf. Metabolite des HBCD identifiziert werden würden. Für diese Untersuchungen wurden entsprechende Inkubationen unter Verwendung der zur Verfügung stehenden Cytochrome (1A2, 2B6 sowie 3A4) durchgeführt. Im Ergebnis dieser Untersuchung stellte sich heraus, dass lediglich CYP3A4 als einziges der untersuchten Cytochrome am Metabolismus von HBCD beteiligt zu sein scheint, da nur hier (mono- und dihydroxylierte) Abbauprodukte nachgewiesen wurden. Abbildung 63 zeigt das Monohydroxy-HBCD-Verteilungsmuster nach Inkubation von diastereomerenreinem α -, β - und γ -HBCD mit CYP3A4.

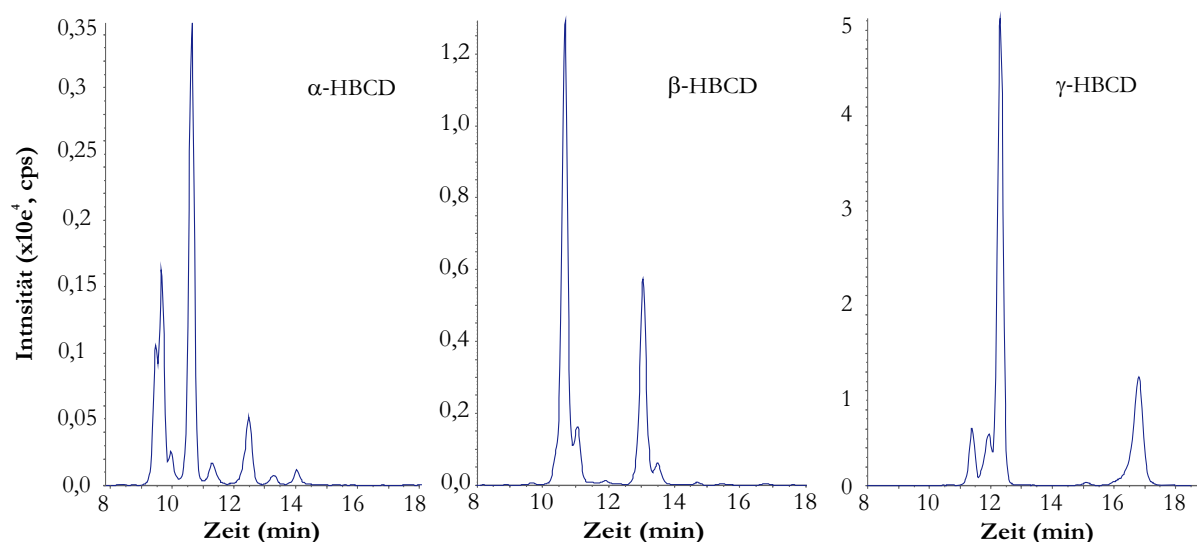


Abbildung 63: SRM-Chromatogramm (m/z 656,7 \rightarrow 79,0) der monohydroxylierten HBCD-Metabolite, ausgehend von diastereomerenreinem α -, β - und γ -HBCD nach Inkubation mit dem Cytochrom 3A4.

Interessanterweise sind bei diesem Inkubationsansatz auch bei β -HBCD diverse monohydroxylierte Verbindungen mit Retentionszeiten zwischen 10,5 und 13,5 min zu beobachten. Die Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den in Kapitel 4.6.3 beschriebenen experimentellen Ergebnissen der Inkubationen induzierter Rattenlebermikrosomen und bestätigen somit die Beobachtungen aus den Inkubationen der nicht-induzierten Lebermikrosomen. Weiterhin ist auffällig, dass die monohydroxylierten Metabolite nach Inkubation mit CYP3A4 ein anderes Verteilungsmuster aufweisen als nach Inkubation mit den Lebermikrosomen. Da diese eine große Vielfalt an verschiedenen Cytochromen aufweisen, sind mögliche Wechselwirkungen, Konkurrenzreaktionen oder inhibierenden Effekte nicht auszuschließen und könnten somit Ursache für die Abweichungen des Metabolit-Verteilungsmusters sein. Die experimentellen sowie mathematischen Befunde lassen den Schluss zu, dass CYP3A4 bzw. strukturell ähnliche CYP3A am Phase I-Metabolismus von HBCD maßgeblich beteiligt sind. CYP3 ist die in der menschlichen Leber mit einem Gesamtanteil von 30 % am häufigsten vertretene Cytochrom-Familie und zeigt eine außerordentlich breite Substratspezifität. Neben verschiedenen Arten von Steroidhormonen, Alkaloiden und PAKs, metabolisiert CYP3 das Mykotoxin Aflatoxin B1 und ist bspw. durch Phenobarbital induzierbar [366].

Bislang sind nur wenige Studien bekannt, welche sich mit den am HBCD-Abbau beteiligten Enzymen beschäftigen. Untersuchungen im Hinblick auf die Wirkung von HBCD auf hepatisches CYP P450 der

Ratte zeigten eine signifikante Induktion von CYP3A1 und CYP2B1/2B2 [228]. Die Cytochrome 1A1 und 1A2 weisen analog zu den hier vorgestellten Beobachtungen keinen signifikanten Effekt auf. CYP3A1 und das für die experimentellen Versuche verwendete CYP3A4 sind Teil der gleichen CYP3A Unterfamilie und bestehen zu über 55 % aus der gleichen Aminosäuresequenz [367]. Aus diesem Grund scheint es durchaus plausibel, dass das gemeinsame Strukturmerkmal dieser Unterfamilie mit der Eigenschaft einhergeht, HBCD im Rahmen des Phase I-Metabolismus durch Hydroxylierung zu funktionalisieren. Weiterhin wurde eine Induktion der CYP2B und 3A im Süßwasserfisch [230] sowie in Ratten-Hepatocyten [233] nachgewiesen. Die Hepatocyten [231] und Eier [232] vom Huhn reagierten nach Exposition mit HBCD mit einer erhöhten Expression von CYP3A und CYP2H.

Die im Folgenden vorgestellten Berechnungen sollten dazu dienen, die Wasserstoffatome des HBCDs zu identifizieren, welche einem oxidativen Angriff seitens des Cytochroms am zugänglichsten sind. Mit dieser Kenntnis ist es möglich, die entsprechenden Konformationen der gebildeten Monohydroxy-HBCDs abzuschätzen. Vergleichend dazu wurden im Rahmen der experimentellen Untersuchungen die vier Stereoisomere von α - und γ -HBCD mit CYP3A4 inkubiert, um eine Aussage hinsichtlich der Anzahl der enantiomerspezifisch gebildeten Metabolite treffen zu können. Entsprechende Retentionszeiten der hierbei resultierenden Monohydroxy-HBCDs sind zusammenfassend in Tabelle 47 aufgelistet.

Tabelle 47: Retentionszeiten (min) der Monohydroxy-HBCD-Metabolite nach Inkubation der enantiomerenreinen α - und γ -HBCD-Stereoisomere mit CYP3A4.

Monohydroxy-HBCD-Metabolite			
(-)- α -OH	(+)- α -OH	(+)- γ -OH	(-)- γ -OH
9,46	9,89	11,94	11,38
9,66	10,63	12,53	15,11
10,63	11,29		16,79
	12,47		

Im Anschluss daran wurde unter Verwendung molekülmechanischer Modelle die Wahrscheinlichkeit eines oxidativen Angriffs auf die verschiedenen Wasserstoffatome im HBCD-Molekül berechnet. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass die α - und γ -HBCD-Stereoisomere insgesamt sechs verschiedene diastereotopie Wasserstoffatome an den Positionen 3, 4 und 7 aufweisen (Abbildung 64) und somit entweder eine R- oder S-Konfiguration einnehmen können.

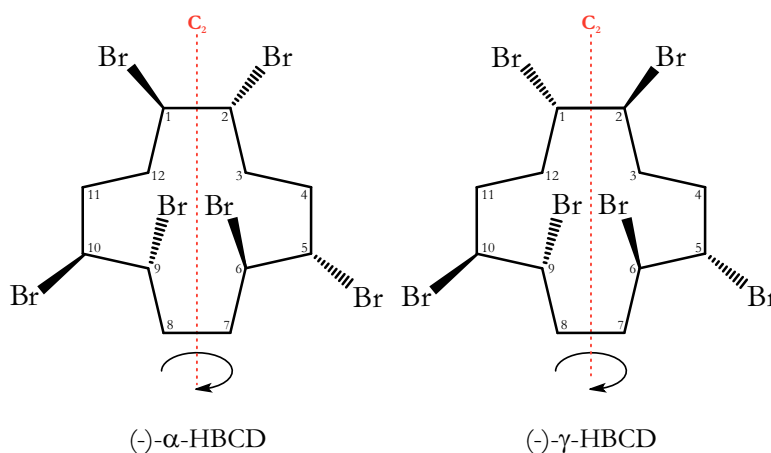


Abbildung 64: C_2 -Symmetrie von (-)- α - und (-)- γ -HBCD.

Unter Betrachtung der HBCD-Strukturen im Vakuum wurden zunächst die dem Lösungsmittel zugänglichen Bereiche (SASA) eines jeden der sechs stereochemisch verschiedenen Methylen-Wasserstoffatome unter Verwendung des globalen Minimums der potentiellen Energien des jeweiligen Stereoisomers berechnet (Tabelle 48). Die Wasserstoffatome an den Kohlenstoffatomen der Positionen 1,

2, 5, 6, 9 und 10 wurden bei den Berechnungen außer Acht gelassen, da ihre Zugänglichkeit durch die ebenfalls dort befindlichen Brom-Substituenten stark eingeschränkt ist. Anhand der ermittelten Ergebnisse wird deutlich, dass die Wasserstoffatome unterschiedliche Zugänglichkeiten zu einem Lösungsmittel-Molekül aufweisen, was zu präferierten Positionen im Rahmen eines oxidativen Angriffs verschiedener Spezies führen kann. In einem zweiten Ansatz wurden die relativen Zugänglichkeiten der Wasserstoffatome an den Positionen 3, 4 und 7 zum aktiven Zentrum des CYP3A4 untersucht.

Tabelle 48: *Solvent accessible surface area*, SASA (\AA^2) der diastereotopen Wasserstoffatome der α - und γ -HBCD-Stereoisomere sowie der Dipolmomente (DP) in Debye der jeweiligen Monohydroxy-HBCDs.

Position H/OH	(-)- α -HBCD ^a		(+) - α -HBCD ^a		(-)- γ -HBCD ^a		(+) - γ -HBCD ^a	
	SASA	DP	SASA	DP	SASA	DP	SASA	DP
3R	9,9	1,6	8,0	2,0	5,9	3,8	7,6	1,8
3S	8,0	2,0	9,9	1,6	7,6	1,8	5,9	3,8
4R	11,1	1,1	3,6	3,3	9,5	1,8	0,37	2,2
4S	3,6	3,3	11,1	1,1	0,33	2,5	9,5	1,8
7R	2,8	3,1	12,6	1,6	2,8	2,7	14,7	2,3
7S	12,6	1,6	2,8	3,1	14,7	2,3	2,9	2,7

^a Die fettmarkierten Werte können aufgrund geringer SASA von der Auswertung ausgeschlossen werden

Für diese Simulation wurde die Struktur des CYP3A4 des PDB-Eintrages 1WOE verwendet, da diese die niedrigsten potentiellen Energien mit den HBCD-Isomeren beim semi-flexiblen Docking zeigte (Tabelle 46). Hierfür wurde die Disauerstoffeinheit des Oxoferryl-Fe^{IV}-Komplexes des Cytochrom P450 separat modelliert. Durch anschließende Drehung der HBCD-Moleküle in Richtung der Eckpunkte eines Ikosaeders, wurde sichergestellt, dass jedes Wasserstoffatom in die Nähe des angreifenden Sauerstoffs gelangt. Gleichzeitig können durch die Drehung unterschiedliche Positionen des HBCD-Moleküls in der Enzymtasche berücksichtigt werden. Zusätzlich wurde für jedes Wasserstoffatom ein sogenannter Makrozustand M definiert, welcher die Positionen des HBCDs beschreibt, der einen kleineren Abstand zwischen dem angreifenden Sauerstoff und dem entsprechenden Wasserstoff als die definierte Distanz d aufweist. Hinterher erfolgte die Ermittlung der Größe der Makrozustände sowie der Mittelwerte der 50 bzw. 100 niedrigsten Energiezustände. Für jedes Wasserstoffatom wurden jene Trajektorien ausgewählt, deren Abstand zwischen dem Wasserstoff und dem angreifenden Sauerstoff kleiner als d ist. Die Mittelwerte der 50 bzw. 100 niedrigsten Energiezustände bei d = 2,3 bzw. 2,4 \AA sind in Tabelle 49 dargestellt.

Tabelle 49: Mittlere Energien (kJ mol^{-1}) zwischen den α - und γ -HBCD-Stereoisomeren und CYP3A4 mit unterschiedlichen Rotationen der HBCD-Liganden unter Berücksichtigung verschiedener Sauerstoff-Wasserstoff-Distanzen (d).

Position im Molekül	(-)- α -HBCD ^a		(+) - α -HBCD ^a		(-)- γ -HBCD ^a		(+) - γ -HBCD ^a	
	d = 2,3	d = 2,4	d = 2,3	d = 2,4	d = 2,3	d = 2,4	d = 2,3	d = 2,4
3R	-157,7	-161,2	-147,5	-154,9	-146,3	-152,9	-149,1	-155,2
3S	-155,6	-162,6	-150,4	-154,5	-156,2	-162,3	-156,0	-163,7
4R	-144,5	-154,0	-142,3	-150,0	-149,7	-153,6	-132,0	-144,9
4S	-143,1	-150,5	-169,7	-173,0	-142,7	-151,5	-149,7	-155,7
7R	-135,8	-145,3	-150,3	-158,6	-145,7	-153,9	-158,3	-162,7
7S	-158,4	-163,4	-139,0	-146,2	-157,7	-162,9	-140,1	-149,0

^a Die fettmarkierten Werte können aufgrund geringer SASA von der Auswertung ausgeschlossen werden

Die Wahrscheinlichkeit eines oxidativen Angriffs an die verschiedenen Wasserstoffatome in den HBCD-Molekülen durch CYP3A4 hängt von zwei Bedingungen ab: erstens muss die SASA des jeweiligen Wasserstoffatoms ausreichend groß für den Angriff sein und zweitens muss das jeweilige HBCD-Molekül in der Lage sein, eine energetisch günstige Position innerhalb des aktiven Zentrums von CYP3A4 einzunehmen, um den Angriff zu ermöglichen. Das bedeutet, dass im Falle von (-)- α -HBCD, die Positionen 4S und 7R und bei (+)- α -HBCD die Wasserstoffatome der Positionen 4R und 7S von der weiteren Betrachtung ausgeschlossen werden können (Tabellen 48 und 49). Die Bindungsenergien des Wasserstoffatoms der 4S-Position hingegen scheinen im Falle des (+)- α -HBCDs deutlich bevorzugt zu werden (mittlere Energie: 169,7 bzw. 173,0 kJ mol⁻¹ bei d = 2,3 bzw. 2,4 Å). Unter Berücksichtigung der nach Inkubation von (+)- α -HBCD (Tabelle 47) identifizierten vier Monohydroxy-HBCD-Signale kann die Bildung der entsprechenden 3R-, 3S-, 4S- und 7R-Metabolite angenommen werden (Abbildung 65).

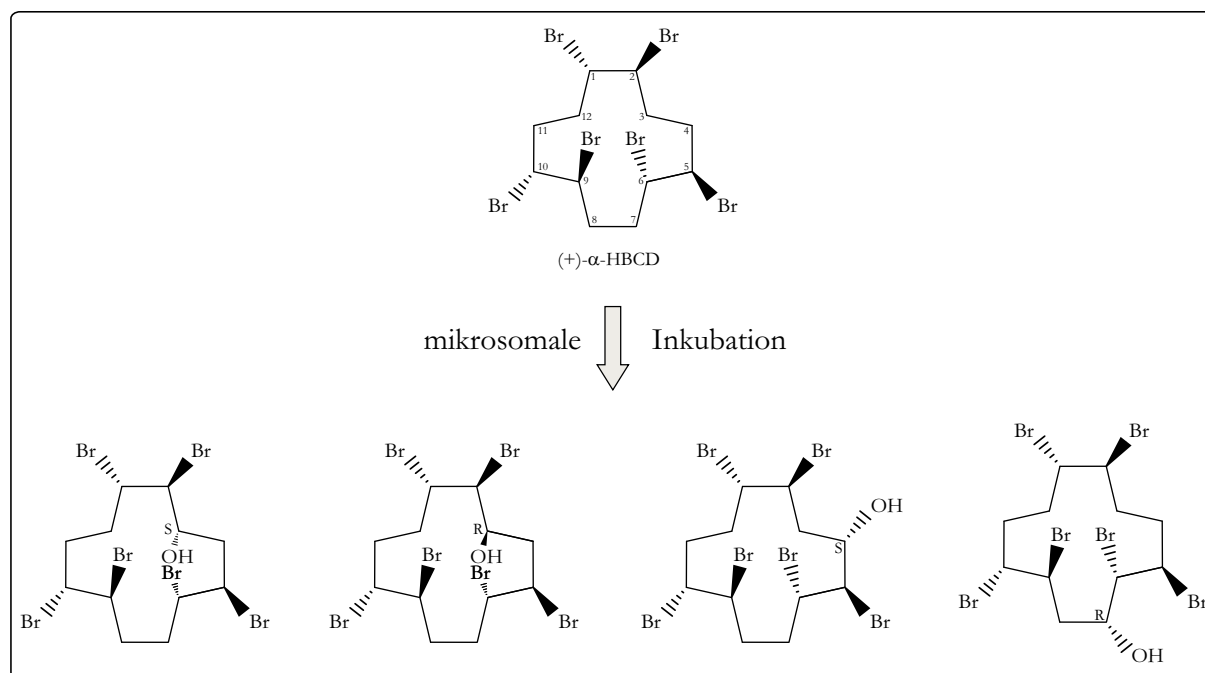


Abbildung 65: Postulierte Strukturen der (+)- α -Monohydroxy-HBCD-Metabolite.

Bei (-)- γ -HBCD können die Positionen 7R, 4S und 3R ausgeschlossen werden. 7S bietet einhergehend mit einer großen SASA und einer bevorzugten Lage im Molekül die höchste Wahrscheinlichkeit einer Hydroxylierung. Es ist daher davon auszugehen, dass bei der Metabolisierung von (-)- γ -HBCD gebildete Abbauprodukte möglicherweise aus dem Angriff an dieser Position hervorgehen. Für (+)- γ -HBCD können die Wasserstoffatome an 4R, 7S und 3S ausgeschlossen werden. Die drei verbleibenden Positionen zeigen ähnliche Wechselwirkungsenergien und würden darüber hinaus mit der experimentellen Beobachtung von drei Monohydroxy-HBCD-Signalen übereinstimmen. Die Reihenfolge der Elution der gebildeten Monohydroxy-Metabolite während der HPLC-Analyse hängt von der Interaktion mit den stationären Phasen (hier achirale C₁₈-Phase und chirale permethylierte β -Cyclodextrineinheit) ab. Erst kürzlich veröffentlichten Durmaz *et al.* eine Strategie zur mathematischen Simulation der Elutionsreihenfolge der drei HBCD-Diastereomere auf einer chiralen Chromatographiesäule (permethyliertes β -Cyclodextrin) [368]. Aufbauend auf dieser Studie könnten weiterführende Berechnungen durchgeführt werden, um ergänzende Informationen hinsichtlich der Elutionsreihenfolge der Monohydroxy-HBCDs zu erhalten.

4.7 Analytische Betrachtung von Tetrabromcyclododecen, einem potentiellen HBCD-Metabolit

TBCD ist in Analogie zu HBCD eine cyclische, einfach ungesättigte, vierfach bromierte Verbindung ($C_{12}H_{18}Br_4$), welche erstmals im Jahr 2009 als Abbauprodukt des HBCDs im Rahmen einer Ratten-Expositionsstudie mit Wistar-Ratten postuliert wurde [227]. Im Rahmen dieser Studie wurden Wistar-Ratten über einen Zeitraum von 28 Tagen mit HBCD-dotiertem Futter, welches zuvor auf Verunreinigungen von TBCD untersucht wurde, gefüttert und anschließend die einzelnen Gewebearten (Leber, Lunge, Muskelfleisch und Fettgewebe) auf HBCD und dessen Abbauprodukte unter Verwendung der GC-MS sowie der HPLC-MS untersucht. TBCD ist bislang kommerziell nicht erhältlich, sodass eine Quantifizierung der Gehalte nicht möglich ist. Darüber hinaus findet diese Verbindung keine industrielle Anwendung, sodass ein möglicher Eintrag in die Umwelt über einen anderen Weg ausgeschlossen werden kann. Um daher das Vorkommen von TBCD in Biota-Proben genauer zu untersuchen und damit einhergehend ggf. diese Verbindung als einen Metaboliten den HBCDs zu identifizieren, sollten Stereoisomere des TBCDs, wie sie bereits von Brandsma *et al.* beschrieben wurden [227], synthetisiert sowie deren absolute Konfiguration mittels Röntgeneinkristallstrukturanalyse bestätigt werden.

Neben dem TBCD berichteten mehrere Studien von dehydrohalogenierten HBCD-Metaboliten, wie dem PBCD ($C_{12}H_{17}Br_5$; [80,162,164,227,369]) und dem Tetrabromcyclododecadien ($C_{12}H_{16}Br_4$; [58,162,164]), welche sowohl in Biota als auch in Abiota bereits identifiziert werden konnten. Im weiteren Verlauf soll jedoch das TBCD im Fokus der Betrachtung stehen und nicht näher auf die dehydrohalogenierten HBCD-Metaboliten eingegangen werden.

Nach Entwicklung eines entsprechenden Analysenverfahrens für den Nachweis von TBCD unter Verwendung der HPLC-MS/MS sollten ausgewählte Realproben im Hinblick auf eine TBCD-Belastung analysiert werden. Resultierend aus der Bromierung von *c,t*-Cyclododecatrien mit zwei Äquivalenten Brom entstehen vier Stereozentren an den Positionen 5, 6, 9 und 10, wobei eine Doppelbindung (*cis* oder *trans*) im Molekül bestehen bleibt (Abbildung 26; Kapitel 3.13). Hieraus ergeben sich sechs Stereoisomere, darunter zwei diastereomere Enantiomerenpaare (1a/b, 2a/b) sowie zwei *meso*-Formen (3,4; Abbildung 66).

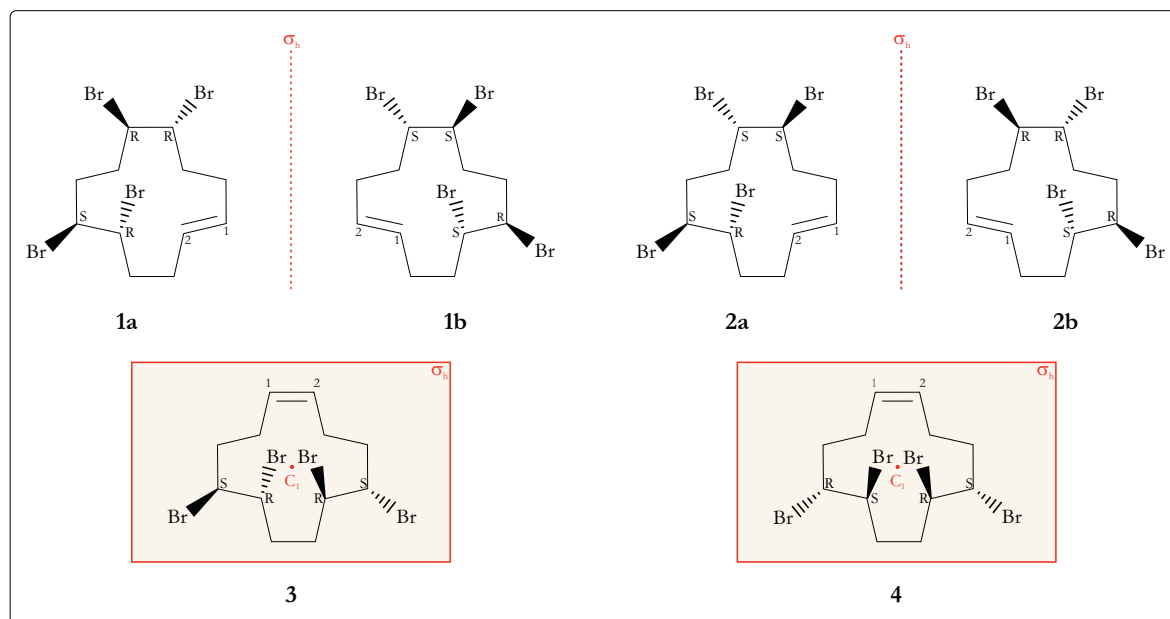


Abbildung 66: Schematische Darstellung der sechs möglichen Stereoisomere des TBCDs ausgehend von der Bromierung (zwei Äquivalente Brom) von 1Z,5E,9E-CDT.

Die Synthese von 1Z,5S,6R,9R,10S- und 1E,5R,6S,9S,10S-TBCD basierte auf einer Addition von zwei Äquivalenten Brom an das 1Z,5E,9E-Cyclododecatrien unter Variation von Reaktionstemperatur sowie

Lösungsmittelzusammensetzung gemäß Smith *et al.* [22]. Die Reaktionsprodukte wurden nach Aufreinigung (Kapitel 3.13) zur Reaktionskontrolle in Methanol aufgenommen, verdünnt und anschließend mittels GC-MS, HPLC-DAD und -MS untersucht. Die Aufnahme eines Full-Scan Massenspektrums (Abbildung 67) unter Verwendung der HPLC-MS ergab zunächst Signale mit den typischen Bromisotopenmustern. Das intensivste Signal im Spektrum, das Quasi-Molekülion ($[M-H]^-$, m/z 480,8) deutet auf vier Brom-Atome im Molekül hin. Bei den verbleibenden Signalen handelt es sich um Addukte mit zwei Wassermolekülen ($[M-H+2H_2O]^-$, m/z 517,0), einem Acetat-Molekül ($[M-H+CH_3COOH]^-$, m/z 541,0) oder einem weiteren Brom-Atom ($[M-H+Br]^-$, m/z 561,0).

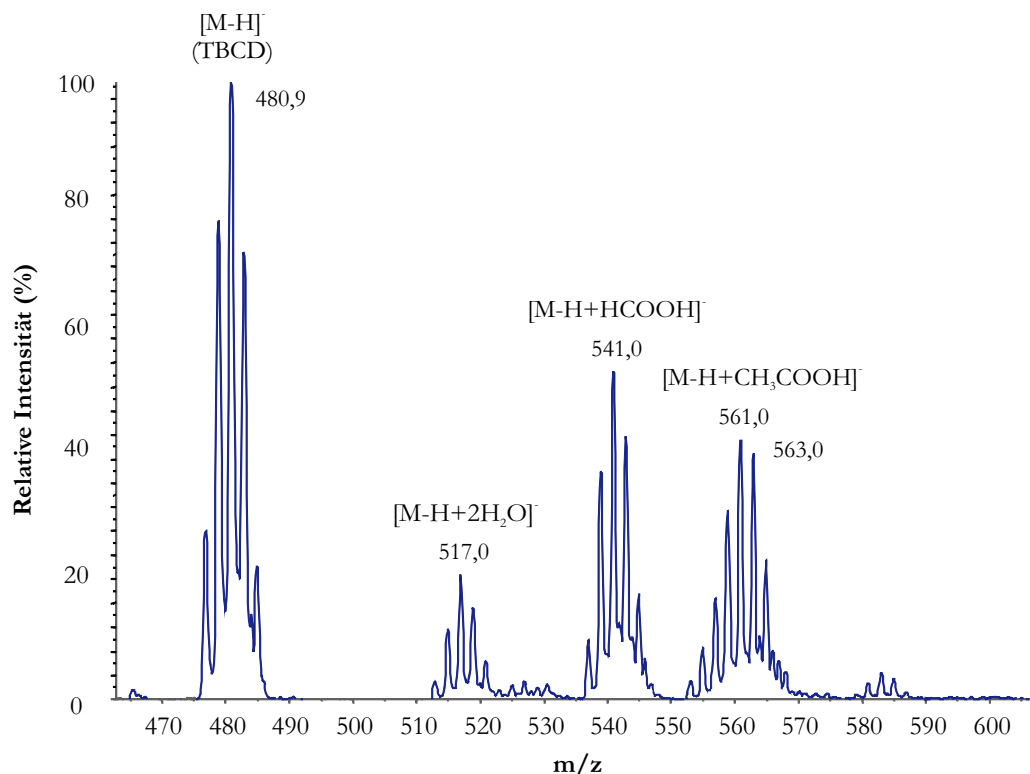


Abbildung 67: Full-Scan Massenspektrum im Bereich von m/z 460-650 des synthetisierten TBCDs.

Wie bereits von Smith *et al.* beschrieben, ist lediglich die direkte Synthese dieser beiden TBCD-Isomere in ausreichenden Mengen möglich. Zur Herstellung von 1*E*,5*R*,6*S*,9*R*,10*R*- und 1*Z*,5*S*,6*R*,9*S*,10*R*-TBCD (Abbildung 66, 1a/b und 4) wurde daher der Ansatz der thermisch induzierten intramolekularen Isomerisierung verfolgt [22]. Ausgangsmaterial für diese Untersuchungen waren jeweils 2-4 mg der beiden synthetisierten TBCD-Fractionen. Nach einer Einwaage der entsprechenden Menge in HPLC-Vials, wurden diese bei 120-180 °C im Muffelofen erhitzt, in 10-Minuten-Intervallen wieder entnommen, zügig abgekühlt, in Tetrahydrofuran aufgenommen und anschließend mittels HPLC-DAD analysiert. Um eine thermische Zersetzung und/oder Oxidation zu unterbinden, wurde der Ansatz unter Verwendung von Argon als Schutzgas zum Überfluten des Gasraumes im Vial verwendet.

Anhand der zeitlichen Entwicklung der relativen Flächenanteile ist in Abbildung 68 deutlich zu erkennen, dass bei 140 °C neben der Abnahme der Signalintensität der eingesetzten *meso*-Form (1*Z*,5*S*,6*R*,9*R*,10*S*-TBCD) über die Dauer von 90 min die Umwandlung in ein neues TBCD-Stereoisomer stattfand. Die Verbindung wurde nach Aufnahme eines Full-Scan Massenspektrums (HPLC-MS) bestätigt. Um die absolute Konfiguration dieser drei Verbindungen zu bestimmen und somit deren Struktur eindeutig zuordnen zu können, wurden aus den jeweiligen Synthesansätzen, nach präparativer Aufreinigung mittels HPLC und anschließender Kristallisation, eine Röntgeneinkristallstrukturanalyse durchgeführt. Die entsprechenden Kristalldaten sind in Tabelle 50 aufgeführt.

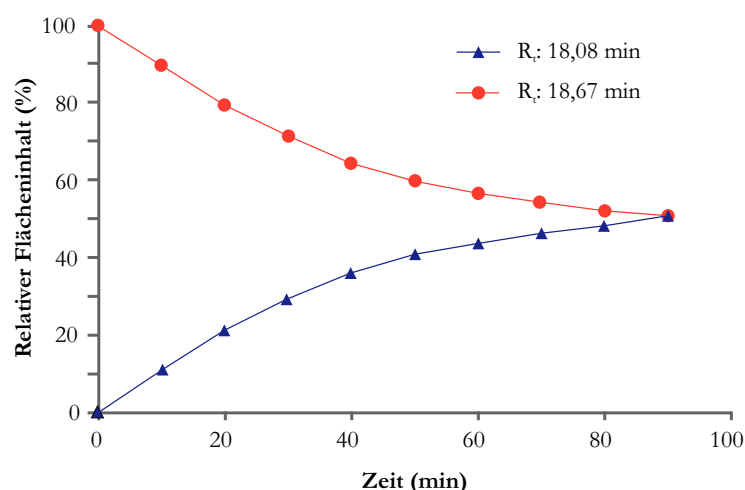


Abbildung 68: Bildung von 1Z,5S,6R,9S,10R-TBCD (blau) durch thermische Isomerisierung von 1Z,5S,6R,9R,10S-TBCD (rot) bei 140 °C unter Inertgas.

Tabelle 50: Ausgewählte Kristalldaten der synthetisierten TBCD-Stereoisomere.

TBCD-Stereoisomer			
Summenformel	C ₁₂ H ₁₈ Br ₄		
Konformation	C ₅ : R; C ₆ : S; C ₉ : S; C ₁₀ : S	C ₅ : S; C ₆ : R; C ₉ : S; C ₁₀ : R	C ₅ : S; C ₆ : R; C ₉ : R; C ₁₀ : S
T (K)	273(2)	296(2)	273(2)
λ (Å)	0,71073	0,71073	0,71073
Kristallsystem	orthorhombisch	monoklin	monoklin
Raumgruppe	Pbca (Nr. 61)	P2 ₁ /c (Nr. 14)	P2 ₁ /c (Nr. 14)
Zellparameter			
a (Å)	12,498(7)	7,3564(9)	12,044(6)
b (Å)	14,306(8)	17,767(2)	13,300(7)
c (Å)	17,183(9)	11,8610(15)	9,986(5)
β (°)	-	90,629(9)	109,509(8)
VEZ ^a (Å ³)	3.072,26(3)	1.550,2(3)	1.507,7(13)
Z ^b	8	4	4
μ ^c (mm ⁻¹)	10,46	10,36	10,65
R-Werte: R1	0,0371	0,068	0,0468
wR2	0,1074	0,180	0,1401

^a Volumen der Elementarzelle, ^b Formeleinheiten pro Elementarzelle, ^c linearer Absorptionskoeffizient

Im Resultat handelt es sich bei allen drei aus den Syntheseansätzen isolierten Verbindungen um Stereoisomere des TBCDs, namentlich den beiden *meso*-Formen 3 und 4 sowie dem diastereomeren Enantiomerenpaar 2 a/b (Abbildung 66). Das 1*E*,5*R*,6*S*,9*S*,10*S*-TBCD (Abbildung 66, 2 a/b) kristallisiert hierbei in der orthorhombischen Raumgruppe Pbca, wobei die Moleküle in der Elementartelle so angeordnet sind, dass ein Molekül in Abständen von 6,302(2) bis 7,499(3) Å von jeweils vier weiteren Molekülen umgeben ist. Im Gegensatz dazu kristallisieren die beiden *meso*-Formen von 3 und 4 (Abbildung 66) in der monoklinen Raumgruppe (P2₁/c). In der Elementarzelle des 1*Z*,5*S*,6*R*,9*S*,10*R*-TBCDs ist jedes Molekül in Abständen von 7,083(1) und 7,356(1) Å von vier weiteren Molekülen umgeben. In der b-c-Ebene ergibt sich dadurch eine Anordnung der Moleküle in verzerrten Sechsringe, wohingegen die Anordnung senkrecht zu dieser Ebene verzerrt quadratisch ist. Die Analyse des 1*Z*,5*S*,6*R*,9*R*,10*S*-TBCDs zeigt eine Fehlordnung des Moleküls im Bereich der Doppelbindung. Im Festkörper sind die beteiligten Atome ober- und unterhalb der Ringebene angeordnet (50 : 50), wobei auch in diesem Fall jedes Molekül von vier weiteren umgeben ist. Die Molekülschwerpunkte zeigen eine verzerrt tetraedrische Anordnung und bilden gemeinsam das Motiv eines stark verzerrten Diamantgitters.

Bei allen drei untersuchten Strukturen wurden im Gegensatz zu HBCD [14] keine Brom-Brom-Wechselwirkungen beobachtet. Die von Smith *et al.* angegebenen Kristallstrukturen sind zum Vergleich der Daten im Anhang (Tabelle B5) aufgeführt [22].

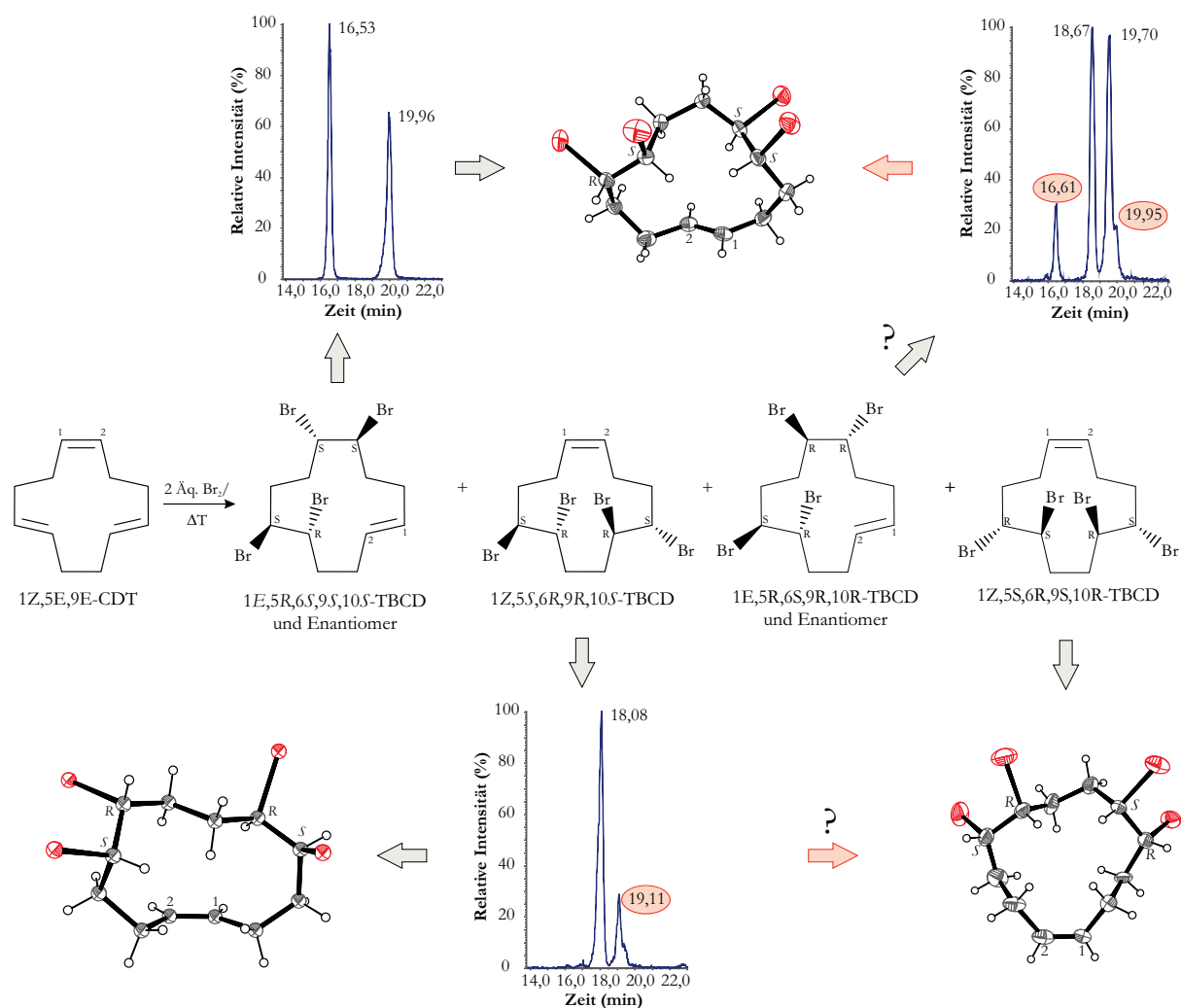


Abbildung 69: SRM-Chromatogramme und/oder Zuordnung der durch Röntgeneinkristallstrukturanalyse ermittelten absoluten Konfigurationen der vier TBCD-Isomere.

Im Rahmen der Variation der Reaktionsbedingungen, sowohl für die Bromierung von CDT als auch der thermischen Isomerisierung war es nicht möglich, das verbleibende vierte Stereoisomer (diastereomeres Enantiomerenpaar 1 a/b) in einer für eine abschließende Charakterisierung ausreichenden Menge herzustellen. Bei Kontrolle des Synthesansatzes (HPLC-MS/MS) konnte ein chromatographischer Nachweis der Bildung eines diastereomeren Enantiomerenpaares unter Betrachtung des TBCD-Massenüberganges ($480,9 \rightarrow 80,8$) erbracht werden. Die Retentionszeiten der vermeintlichen Enantiomere dieses TBCDs betragen hier 18,67 bzw. 19,70 min (Abbildung 69). Die aus dem Chromatogramm zu erkennenden Signale bei 16,61 und 19,95 min sind auf verbliebene Mengen von Verbindung 2 a/b des Interkonvertierungsansatzes zurückzuführen. In Anlehnung an die Bezeichnung der HBCD-Diastereomere entsprechend ihrer Elutionsreihenfolge auf einer C_{18} -Phase, kann für die hier untersuchten TBCD-Stereoisomere eine analoge Benennung unter Verwendung des griechischen Alphabetes vorgenommen werden. Unter Berücksichtigung der zuerst eluierenden Enantiomere ergeben sich laut der Nummerierung in Abbildung 66 folgende Bezeichnungen für die einzelnen Verbindungen:

- 1E,5R,6S,9S,10S-/1E,5R,6R,9R,10S-TBCD (2 a/b) \rightarrow (\pm)- α -TBCD,
- 1Z,5S,6R,9R,10S-TBCD (3) \rightarrow β -TBCD,

- 1*E*,5*R*,6*S*,9*R*,10*R*-/1*E*,5*S*,6*S*,9*R*,10*S*-TBCD (1 a/b) → (±)-γ-TBCD,
- 1*Z*,5*S*,6*R*,9*S*,10*R*-TBCD (4) → δ-TBCD.

Bei Betrachtung der mit Hilfe der Röntgeneinkristallstrukturanalyse ermittelten absoluten Konfigurationen der übrigen drei TBCD-Stereoisomere ist festzustellen, dass die thermisch induzierte Isomerisierung von β-TBCD analog zu der von HBCD verläuft [14]. Die Inversion der Konfiguration zweier vicinaler Kohlenstoffatome findet gemäß Köppen *et al.* infolge einer *anti*-Konformation der vicinalen Brom- und Kohlenstoffatome unter Beibehaltung der relativen Konfiguration an den Positionen C9-C10 statt. Im Falle von (±)-γ-TBCD, dem zweiten nicht isolierten diastereomeren Enantiomerenpaar, würde es sich hingegen um eine Isomerisierung, basierend auf einer *gauche*-Konformation der vicinalen Brom-Atome, handeln. Der hierbei zugrunde liegende cyclisch konzentrierte Mechanismus wurde bereits zuvor schon für die Umlagerung von 1,2-Dibromcyclohexan-Derivaten postuliert [370].

Zur Entwicklung eines HPLC-MS/MS-basierten Analysenverfahrens sollte zunächst die massenspektrometrische Detektion optimiert werden. Hierfür wurden spezifische Fragmente des TBCDs mit Hilfe eines Produkt-Ionen-Scans im Bereich von *m/z* 50-650 ermittelt. Analog zu HBCD bzw. dessen hydroxylierten Metaboliten ergab das [M-H]⁻-Ion als einziges Fragment das Brom-Ion (Br⁻) mit *m/z* 79,0 / 81,0. Die SRM-Methode wurde daraufhin für den Übergang *m/z* 480,9 → 80,8 optimiert. Der Einfluss der Stärke der Ionisierungsspannung auf den Signalresponse sowie die endgültigen MS-Parameter sind in Abbildung 70 bzw. Tabelle 51 zu entnehmen.

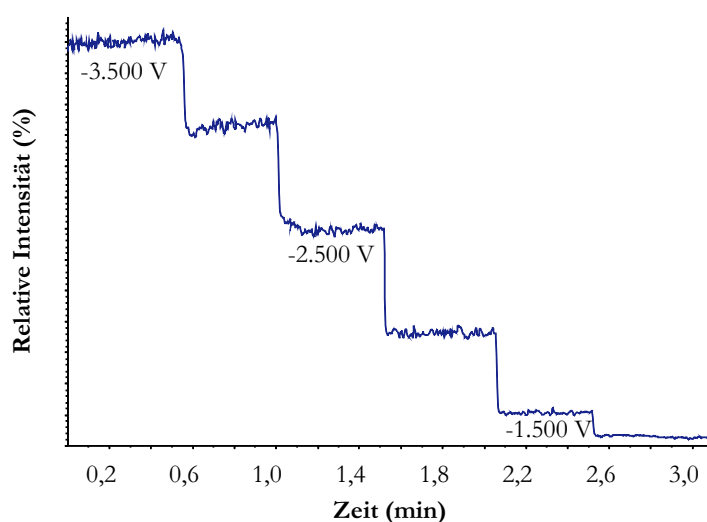


Abbildung 70: Veränderung der Ionenintensität von TBCD (SIM-Modus, *m/z* 480,8) bei ausschließlicher Variation der Ionisations-Spannung der ESI-Quelle.

Tabelle 51: Optimierte MS-Parameter von TBCD (*m/z* 480,8 → 80,8).

MS-Parameter			
Ionisierungsart	ESI	Collision gas	4 a.u.
Ionisierungsmodus	negativ	Curtain gas	20 a.u.
Detektionstechnik	MRM	Ion Source Gas 1	60 a.u.
Declustering Potential	-20,0 V	Ion Source Gas 2	10 a.u.
Entrance Potential	-10,0 V	Ion Spray Voltage	-3.500 V
Collision Energy	-28,0 V	Temperatur	250 °C
Collision Cell Exit Potential	-1,0 V	Resolution	unit

Im Anschluss an die Optimierung der MS-Parameter wurde zur chromatographischen Charakterisierung für das isolierte (±)-α-TBCD die Retentionszeit, der Kapazitätsfaktor, der Trennfaktor sowie die Auflösung ermittelt. Die nach Mehrfachinjektion (*m* = 10) bestimmten Faktoren sind in Tabelle 52 zusammengestellt.

Tabelle 52: Retentionszeit (t_R), Kapazitätsfaktor (k'), Trennfaktor (α), Auflösung (R_s) und theoretische Bodenzahl (N) für die Enantiomere des (\pm)- α -TBCDs ($n = 1, m = 10$).

	t_R (min)	k^a	α^b	R_s^c	$N^d (\cdot 10^4)$
(\pm)- α -TBCD	16,53	3,25	1,27	2,44	2,92
	19,96	4,11			2,44

^a $k' = (t_R - t_0)/t_0$, wobei t_R die Retentionszeit jedes Enantiomers und t_0 die Totzeit des Säulensystems sind

^b $\alpha = k'_2/k'_1$, die Ziffern 1 und 2 beziehen sich auf die Elutions-Reihenfolge des jeweiligen Enantiomers

^c $R_s = (t_{R1} - t_{R2})/0,5(\omega_1 + \omega_2)$, wobei ω die Peakbreite an der Basis beschreibt

^d $N = 16(t_R/\omega)^2$, wobei ω die Peakbreite an der Basis beschreibt

Aus dem in Abbildung 69 dargestellten SRM-Chromatogrammen ist ersichtlich, dass es sich bei (\pm)- α -TBCD erwartungsgemäß um ein diastereomeres Enantiomerenpaar handelt, welches an einer chiralen Phase in zwei Enantiomere aufgetrennt wird, wobei die jeweiligen Retentionszeiten bei 16,53 und 19,96 min liegen. Im Falle der beiden *meso*-Formen konnte aufgrund einer zu geringen Substanzmenge nur für das β -TBCD die chromatographische Retentionszeit bestimmt werden. Wie aus Abbildung 69 zu entnehmen ist, eluiert diese *meso*-Form vor dem (\pm)- α -TBCD bei 18,08 min. Das zweite Signal in diesem Chromatogramm bei 19,11 min stellt eine mögliche Verunreinigung durch die zweite *meso*-Form (δ -TBCD) dar. In Ermangelung von Reinsubstanz dieses Stereoisomers konnte diese Hypothese jedoch nicht überprüft werden. Im Zuge von weiteren Untersuchungen zum Thema des Vorkommens von TBCD in Umweltkompartimenten wäre zur eindeutigen Identifizierung der γ -TBCD-Enantiomere die Ermittlung der spezifischen Drehwinkel von großer Bedeutung.

Im Anschluss an die strukturelle Aufklärung erfolgte die Entwicklung eines Analysenverfahrens zur qualitativen Identifizierung der TBCD-Stereoisomere in Biotaprobe. Die Retentionszeiten der verschiedenen TBCD-Stereoisomere liegen in einem von den Enantiomeren des (\pm)- α -TBCDs aufgespannten Bereich zwischen 16,53 und 19,96 min. Darüber hinaus befindet sich dieser wiederum innerhalb der Retentionszeitspanne der sechs HBCD-Stereoisomere. Aus diesem Grund wurde für die Überprüfung der Anwendbarkeit des bestehenden HBCD-Analysenverfahrens für den Nachweis von TBCD das α -Diastereomer verwendet, welches in ausreichender Menge zur Verfügung stand. Aus Gründen der Praktikabilität erfolgte diese Überprüfung mittels Dotieransätzen, in deren Ergebnis die Eignung des Analysenverfahrens bewiesen wurde. Daher konnten die bereits für die HBCD-Analytik aufgereinigten Biotaprobeneextrakte auf das Vorkommen von TBCD hin untersucht werden. Allerdings war es nicht möglich, die synthetisierten und charakterisierten TBCD-Stereoisomere in diesen Proben nachzuweisen.

Daher kann zusammenfassend festgestellt werden, dass TBCD zwar möglicherweise ein Metabolit des HBCDs darstellt, in den untersuchten Biotaprobe allerdings keines der synthetisierten Isomere nachgewiesen und somit die Untersuchungen von Brandsma *et al.* nicht bestätigt werden konnten [227]. Da in dieser Studie Ratten einer sehr hohen Dosis HBCD ausgesetzt wurden, besteht die Möglichkeit, dass die Metabolisierung daher andere Abbauprodukte hervorbrachte, die unter Realbedingungen in Biotaprobe nicht identifiziert werden können. Eine mögliche Verunreinigung des eingesetzten HBCDs mit unvollständig bromierten Zwischenprodukten wie dem TBCD, konnte aufgrund durchgeführter Qualitätssicherungs- und Kontrollmaßnahmen (u. a. Standardkontrolllösungen) als Eintragsquelle ausgeschlossen werden.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Um eine hohe Aussagefähigkeit der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Studien zu gewährleisten und im Falle einer möglichen Reglementierung von HBCD schnell und zuverlässig agieren zu können, wurde zunächst ein reproduzierbares und sensitives Analysenverfahren mit bekannter Messunsicherheit zur Bestimmung der enantiomerenspezifischen HBCD-Gehalte in Biota entwickelt und validiert. Das resultierende Analysenverfahren, bestehend aus ASE®-Extraktion, Extrakt-Aufreinigung unter Verwendung der GPC sowie der Adsorptionssäulenchromatographie und abschließender HPLC-MS/MS-Analytik, basiert auf dem Einsatz $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierter interner Standards ((\pm)- α -, (\pm)- β - und (\pm)- γ - $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD). Die erfolgreiche Validierung spiegelt die Erfüllung der besonderen Anforderungen für den Einsatz des Analysenverfahrens im spurenanalytischen Bereich für eine große Bandbreite an Biota wider. Die Eignung des Analysenverfahrens für diesen bestimmungsgemäßen Gebrauch wurde darüber hinaus durch die erfolgreiche Akkreditierung im Jahr 2010 durch die Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH (DAkkS, Akkreditierungsurkunde: DAP-PL-2614.14) bestätigt. Das entwickelte Analysenverfahren zeichnet sich durch eine hohe Nachweisempfindlichkeit mit Nachweisgrenzen zwischen 0,131 und 0,255 pg g^{-1} sowie durch eine sehr gute chromatographische Trennung der (\pm)- α -, (\pm)- β - und (\pm)- γ -HBCD-Enantiomere im Vergleich zu den bisher in der Literatur beschriebenen HPLC-basierten Analysenverfahren aus. Die Wiederfindungsraten der einzelnen HBCD-Isomere für das entwickelte Analysenverfahren lagen zwischen $100,03 \pm 0,88 \%$ und $101,9 \pm 0,5 \%$. Der lineare Bereich für die massenspektrometrische Detektion erstreckt sich von 0,006-202 ng g^{-1} , der lineare Arbeitsbereich von 0,026-132 ng g^{-1} . Abschließende Untersuchungen zur Präzision (Wiederholpräzision und Präzision unter Zwischenbedingungen) ergaben für die einzelnen HBCD-Enantiomere Variationskoeffizienten im Bereich von 0,49-2,44 % sowie 0,51-2,53 %.

Eine Studie zur enantiomerenspezifischen Verteilung von HBCD in Silbermöweneiern (*Larus argentatus*), welche von Brutkolonien dreier Vogelschutzgebiete der Nordsee (Mellum und Trischen) und Ostsee (Heuwiese) in den Jahren 1988-2008 (Nordseeinseln) und 1998-2008 (Ostseeinsel) gesammelt und in der Umweltprobenbank des Bundes gelagert wurden, verdeutlicht die ubiquitäre Verbreitung des HBCDs in der Umwelt. Silbermöwen sind als ein Repräsentant der omnivoren trophischen Stufe und als guter Akkumulationsindikator für marine Lebensräume bekannt und eignen sich daher besonders zur Beobachtung zeitlicher Trends von Umweltkontaminanten in Biota. (\pm)- α -HBCD stellte dabei in allen untersuchten Möweneiprüben das dominierende Diastereomer dar. Dagegen sind (\pm)- β - und (\pm)- γ -HBCD aufgrund ihrer geringen Gehalte zu vernachlässigen. Die höchsten (\pm)- α -HBCD-Gehalte wurden in Möweneiprüben der Insel Mellum aus dem Jahr 2000 nachgewiesen ($65,90 \pm 2,12 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$), wobei die erweiterten Messunsicherheiten für alle ermittelten α -HBCD-Gehalte ($1,68\text{-}65,90 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$) im Bereich zwischen 3,1 und 30,2 % ($k = 2,8$) variierten. Mit Hilfe der Enantiomeren-Gehalte konnten die Enantiomerenfraktionen berechnet und unter Berücksichtigung der erweiterten Messunsicherheiten bei den untersuchten Biotaprüben die Signifikanz der Abweichungen von den racemischen Sollwerten geprüft werden. Mit Ausnahme der Prüben von der Insel Heuwiese waren signifikante Abweichungen vom racemischen EF_α -Wert in Richtung der bevorzugten Akkumulation von (-)- α -HBCD festzustellen.

Die Ermittlung der chronologischen Entwicklung der (-)- und (+)- α -HBCD-Gehalte der Möweneier zeigte einen ähnlichen Verlauf für die beiden Nordseeinseln, charakterisiert durch ein gemeinsames geringes Belastungsniveau zwischen 1988 und 1991, gefolgt von einem Anstieg der HBCD-Gehalte, welcher im Jahr 2000 sein Maximum fand. Darüber hinaus zeigten die Möweneier beider Inseln ein gemeinsames Minimum im Jahr 1994. Die Gehalte der Silbermöweneier der Ostseeinsel Heuwiese sind im zeitlichen Verlauf, ungeachtet dessen, dass keine Prüben vor dem Jahr 1998 für die Analyse zur Verfügung standen, sehr ähnlich. Ermittelte Unterschiede der $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte zwischen den Inseln im betrachteten Zeitraum lassen auf Unterschiede im Nahrungsmuster der Vögel schließen. Aufgrund des konstanten zeitlichen Verlaufes der Isotopie-Werte der einzelnen Inseln kann eine gleichbleibende Ernährungsweise der jeweiligen Silbermöwenkolonie angenommen werden. Somit kann geschlussfolgert

werden, dass die zeitliche Änderung der HBCD-Gehalte auf Änderungen der HBCD-Belastung innerhalb der Nahrung bzw. in der Umwelt beruht. Um die enantiomerenspezifische Anreicherung von HBCD innerhalb der Nahrungskette sowie den zeitlichen Verlauf der Belastungen der Silbermöweneier weitergehend aufklären zu können, sollten aufbauend auf diesen Ergebnissen weiterführende Untersuchungen innerhalb derselben Nahrungskette wie bspw. Muscheln, Fische sowie terrestrische Kleintiere der umliegenden Standorte durchgeführt werden. Darüber hinaus wäre eine Recherche in Bezug auf potentielle HBCD-Expositionsquellen sowie eine Berücksichtigung des Flug- und Jagdgebietes der Silbermöwen bei der Interpretation der Ergebnisse von großem Vorteil.

Untersuchungen ausgewählter mariner Spezies des norwegischen Eikelfandsfjordes dienten durch Vergleich mit Literaturdaten von einem in unmittelbarer Umgebung gelegenen Fanggebiet dem besseren Verständnis des Umweltverhaltens von HBCD. Alle analysierten Proben wiesen signifikante HBCD-Gehalte auf und erhärten somit den Verdacht der Bioakkumulation. Die HBCD-Gehalte lagen zwischen $2,08 \pm 0,63 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ und $48,11 \pm 4,80 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ($U: 8,8\text{--}46,7 \%$; $k = 2,8$), wobei α -HBCD überwiegend das dominierende Diastereomer darstellte. Mit $4,80 \pm 0,48 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ bis $30,32 \pm 2,65 \text{ } \mu\text{g g}^{-1} \text{ lw}$ lagen die Gehalte der am Etnesfjord gefangenen Fische um ein Vielfaches höher. Bei den untersuchten bodenorientierten Spezies konnten höhere γ -HBCD-Gehalte festgestellt werden, die aufgrund des direkten Sediment-Kontaktes sowie deren Ernährung von den das Sediment bewohnenden Beutetieren erklärbar sind. Die EF_{α} -Werte zeigten meist eine Anreicherung von $(-)\text{-}\alpha\text{-HBCD}$, dessen Ursache in speziesabhängigen, enantiomerenspezifischen metabolischen Prozessen begründet sein könnte. Die Vergleichsspezies Makrele (*Scomber scombrus*), Seelachs und Rochen (*Rajomorphii*), die in beiden Fjorden gefangen wurden, wiesen unabhängig von Probenahmejahr, HBCD-Gehalt und Lebensraum dieselben chiralen Signaturen für α -HBCD auf. Hinsichtlich der Gehaltsunterschiede zwischen den Proben beider Fjorde können nur Vermutungen angestellt werden, wobei eine saisonale Schwankung ausgeschlossen werden konnte. Mögliche Ursachen für die hohen Gehalte im Etnesfjord können der stärkere Schiffsverkehr sowie der Einfluss angrenzender Industrie sein. Abschließende Korrelationen der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte mit den HBCD-Gehalten der verschiedenen marinen Spezies zeigten ein ähnliches Verteilungsmuster auf und weisen somit auf eine Bioakkumulation mit höherem trophischem Niveau hin. Im Ergebnis der Untersuchungen wird deutlich, dass neben der allgemeinen ubiquitären Verteilung gerade der Einfluss regionaler Punktquellen nicht vernachlässigt werden darf. Die unterschiedlichen diastereomeren Muster der einzelnen Spezies lassen darauf schließen, dass neben der Bioakkumulation auch der Lebensraum (Sediment bzw. Freiwasser) eine entscheidende Rolle spielt. Daher sollten zukünftige Untersuchungen in Bezug auf das Umweltverhalten von HBCD, neben den eigentlichen Ziel-Organismen, die Gehaltsermittlungen von Spezies oder Umweltkompartimenten berücksichtigen, die unmittelbaren oder mittelbaren Einfluss haben können. Auch in Hinblick auf die hier vorgestellten Ergebnisse der HBCD-Belastungen einiger ausgewählter mariner Spezies wäre neben der Definition potentieller Punktquellen (z. B. Styropor-Produktionsstätten) die HBCD-Gehalte von Wasser, Sediment, Plankton und weiteren aquatischen Bewohnern, die den unteren Nahrungsketten angehören, von großem Interesse.

Die beschriebene Diskrepanz zwischen der Zusammensetzung der Diastereomere im technischen Gemisch und in Biota lässt eine mögliche Bioisomerisierung von γ -HBCD in α -HBCD vermuten. Da die Anreicherung von α -HBCD in Biota u. a. auch durch die unterschiedliche Löslichkeit oder selektive Metabolisierung bestimmter Stereoisomere bedingt sein könnte, ist diese Hypothese bislang nicht bewiesen. Durch die Zufütterung von reinem $(+)\text{-}\gamma\text{-HBCD}$ bzw. $(-)\text{-}\gamma\text{-HBCD}$ sollte daher in dieser Arbeit eine enantiomerenspezifische Akkumulation sowie eine Isomerisierung zu $(+)\text{-}\alpha\text{-}$ bzw. $(-)\text{-}\alpha\text{-HBCD}$ untersucht werden. Wird dieser Effekt beobachtet, so ist der Beweis einer Bioisomerisierung erbracht. Zum Einsatz kamen drei Gruppen von je 56 Spielgelkarpfen (*Cyprinus carpio*), welche in geschlossenen Versuchskreislaufanlagen am Institut für Binnenfischerei e. V. Potsdam-Sacrow auf Basis einer Kooperation gehalten wurden. Bereits nach einer Fütterungsphase von zwei Wochen wurde ein signifikanter Anstieg der gefütterten γ -HBCD-Enantiomere im Leber- und Muskelgewebe der Versuchstiere nachgewiesen. Unter Berücksichtigung der Wachstumsrate sowie der HBCD-Gehalte in der

Kontrollgruppe wurde ein zeitlicher Verlauf der HBCD-Belastung beobachtet. Die verfütterten γ -HBCD-Isomere der einzelnen Versuchsgruppen wiesen dabei ein Maximum am Versuchstag 73 auf, gefolgt von einem Abfallen der Werte. Letzteres könnte auf Metabolisierungs- bzw. Ausscheidungsprozesse zurückzuführen sein. Unabhängig davon wurde unter Berücksichtigung der HBCD-Gehalte sowie der EF_α-Werte kein Beweis für eine Bioisomerisierung zum jeweiligen α -HBCD-Enantiomer erbracht. Somit konnte die Nullhypothese, dass keine Bioisomerisierung erfolgt, statistisch nicht widerlegt werden. Zur umfassenden und abschließenden Einschätzung über das Verhalten von HBCD in biologischen Systemen ist jedoch die detaillierte Kenntnis seiner Interaktion mit dem gesamten Organismus notwendig. Neben der kontrollierten Fütterung mit reinen HBCD-Enantiomeren und der anschließenden Akkumulation im Organismus sollte es daher Ziel zukünftiger Untersuchungen sein, den vollständigen Stoffwechselprozess der Versuchstiere zu beobachten. Dazu zählen neben einer ausreichend langen Fütterungsperiode eine sogenannte Abklingphase, in welcher die Versuchstiere über einen definierten Zeitraum hinweg mit unkontaminiertem Futter versorgt werden, um Abbau- oder Ausscheidungsprozesse zu beobachten. Um ausreichend Informationen über den Stoffwechselprozess der Tiere zu erhalten, sollten darüber hinaus Exkremente der Organismen gesammelt und ebenfalls auf eine Belastung von HBCD sowie das Isomeren-Verteilungsmuster untersucht werden.

Einen weiteren Schwerpunkt dieser Arbeit stellte die enantiomerenspezifische Untersuchung des mikrosomalen Metabolismus von HBCD dar. Die Untersuchungen basieren auf Phase I-Funktionalisierungsreaktionen an reinen HBCD-Enantiomeren und sollen dem besseren Verständnis des HBCD-Metabolismus und der Anreicherung von (-)- α -, (-)- β - und (+)- γ -HBCD in Biotaprobe dienen. Die ersten Ansätze unter Verwendung induzierter SD-Rattenlebermikrosomen zeigten, dass HBCD, wie viele lipophile Xenobiotika, dem Phase I-Metabolismus unterliegt. Für die Analytik von Zeitreihen wurden die Halbwertszeiten eines jeden HBCD-Enantiomers für den jeweiligen Inkubationsansatz berechnet. Mit einer Halbwertszeit von etwa 6,3 min zeigte β -HBCD den schnellsten Abbau, wohingegen bei α - und γ -HBCD neben einer deutlich höheren Halbwertszeit, vermutlich aufgrund enantiomerenspezifischer Metabolisierungsprozesse, eine Anreicherung der von der chiralen β -Cyclodextrinphase zuerst eluierenden HBCD-Enantiomere ((-)- α und (+)- γ) erfolgt. Im Ergebnis der durchgeführten EF-Wert-Ermittlung wird die Vermutung bekräftigt, dass HBCD einem enantiomerenselektiven Metabolismus unterliegt. Mit Hilfe dieser Untersuchungen war es erstmals möglich, die in der Literatur beschriebenen enantiomerenspezifischen Anreicherungen von HBCD in Biota zu bestätigen. Darüber hinaus wurde der Verdacht erhärtet, dass die Phase I-Reaktion im Rahmen des Fremdstoff-Metabolismus die chirale Signatur der HBCD-Diastereomere in Biota beeinflusst.

Weiterführende Untersuchungen an induzierten Rattenlebermikrosomen zeigten, dass HBCD innerhalb der Phase I-Metabolisierung unter Bildung mono- und dihydroxylierter Abbauprodukte funktionalisiert wird. Die Identifizierung der Metabolite erfolgte durch Aufnahme eines Full-Scan Massenspektrums mittels HPLC-MS, wobei das Molekülion (Monohydroxy-HBCD: m/z 656,7; Dihydroxy-HBCD: m/z 672,7) aufgrund seines Bromisotopenmusters jeweils auf sechs Bromatome im Molekül schließen lässt. Die Optimierung der MS-Parameter und anschließende Adaption in die HPLC-MS/MS-Messmethode sollten weiterführenden Untersuchungen dienen. Jedes HBCD-Enantiomer weist nach der Inkubation ein spezifisches Metabolitenmuster auf, was erstmals eine Zuordnung der hydroxylierten Verbindungen zum entsprechenden HBCD-Enantiomer erlaubt. Hierbei entstehen drei Monohydroxy-HBCDs aus (-)- α -HBCD, eines aus (+)- α - sowie zwei aus (+)- γ - und drei aus (-)- γ -HBCD. Interessanterweise konnten für β -HBCD keine Metabolite identifiziert werden. Im Anschluss wurden Biotaprobe von Makrele, Seelachs und Silbermöweneiern auf das Vorkommen dieser HBCD-Metabolite überprüft. Alle untersuchten Proben zeigten ein deutliches Signal von (-)/(+)- α -Monohydroxy-HBCD sowie ein schwaches Signal von (-)- γ -Monohydroxy-HBCD. Bei der Analytik eines stark mit HBCD belasteten Seelachsleber-Extraktes konnten alle in den Inkubationsansätzen identifizierten HBCD-Metabolite nachgewiesen werden.

Die Untersuchungen mit weiteren Lebermikrosomen von Säugetieren (Ratten und Mensch) sowie eigens isolierten Fischlebermikrosomen vervollständigten das HBCD-Metabolit-Verteilungsmuster und erlaubten

einen Vergleich der Metabolisierungsprozesse der unterschiedlichen Spezies. Besondere Aufmerksamkeit galt der Identifizierung eines bislang unbekannten HBCD-Metaboliten, welcher in Lewis-Ratten- und Humanlebermikrosomen sowie in aufgereinigten Silbermöwenei-Extrakten nachgewiesen wurde. Unter Berücksichtigung des Bromisotopenmusters, des Molekulargewichtes sowie möglicher, in der Literatur bereits beschriebener cytochromabhängiger Funktionalisierungsprozesse, wurde die begründete Hypothese aufgestellt, dass es sich hierbei um eine aliphatische Pentabromverbindung (Summenformel: $C_{12}H_{13}Br_5O_6$) mit zwei Carboxyl- und zwei Carbonyl-Gruppen handelt.

In Kooperation mit dem Konrad-Zuse-Institut sollten durch molekülmechanische Berechnungen die Oxidationsprozesse von HBCD im Rahmen der Phase I-Funktionalisierung unter Beteiligung des aktiven Zentrums des Cytochrom P450 (Häm-Gruppe) genauer untersucht werden. Ein semi-flexibles Docking der vier α - und γ -HBCD-Stereoisomere als Liganden an die CYP-Struktur unter Berücksichtigung der potentiellen Energien lassen die Annahme zu, dass CYP3A4 aufgrund seiner strukturellen Eigenschaften am HBCD-Metabolismus beteiligt ist. *In vitro*-Inkubationen reiner Cytochrom-Isoformen stützten diese Vermutung. Neben CYP3A4 wurden u. a. die Cytochrome 1A1, 1A2 und 2B6 untersucht, allerdings wurden nur nach Inkubation von CYP3A4 mono- und dihydroxylierte HBCD-Metabolite identifiziert. Unter Berücksichtigung der freien, angreifbaren Wasserstoffatome im HBCD-Molekül wurden die dem Lösungsmittel zugänglichen Bereiche (*solvent accessible surface area*, SASA) sowie die mittleren Bindungsenergien berechnet, welche Positionen im HBCD am ehesten einem oxidativen Angriff durch das aktive Zentrum des Cytochroms unterliegen. Die Daten der Wasserstoffatome an den Positionen 4S im (+)- α -HBCD-Molekül, 3S, 3R und 7S im (-)- α -HBCD-Molekül sowie 4S und 7R bei (+)- γ -HBCD und 3S, 4R und 7S bei (-)- γ -HBCD deuten auf eine bevorzugte Oxidationsposition hin.

Trotz der hier vorgestellten Ergebnisse ist die (enantiomerenspezifische) Metabolisierung von HBCD noch weitgehend ungeklärt. So besteht bspw. hinsichtlich der Ausscheidung der HBCD-Metabolite aus dem Organismus oder der Toxikologie der HBCD-Metabolite noch dringender Klärungsbedarf. Daher sollte ein besonderes Augenmerk zukünftiger Untersuchungen auf der abschließenden Aufklärung der Metabolisierungsprozesse des HBCDs (u. a. Phase II-Metabolismus) sowie der anschließenden Ausscheidungsprozesse liegen.

Eines der ersten in der Literatur erwähnten Biotransformationsprodukte von HBCD ist das 5,6,9,10-Tetrabromcyclododec-1-en (TBCD). Hierbei handelt es sich um einen Metaboliten, der durch Abspaltung von Brom unter gleichzeitiger Ausbildung einer Doppelbindung entsteht. In Ermangelung der Verfügbarkeit von TBCD wurden dessen Stereoisomere mittels Bromierung von CDT bzw. durch thermische Isomerisierung eines anderen TBCD-Isomers synthetisiert. Im Anschluss an die erfolgreiche Isolierung erfolgte die Strukturaufklärung mittels Röntgeneinkristallstrukturanalyse. Drei der vier möglichen TBCD-Isomere wurden auf diese Weise unter variierenden Synthesebedingungen hergestellt und standen zur Entwicklung eines Analysenverfahrens unter Verwendung der HPLC-MS/MS zu Verfügung. Untersuchte Biota-Matrizes wiesen jedoch keine TBCD-Belastung auf. Da darüber hinaus nach mikrosomaler Inkubationen ebenfalls kein TBCD sowie PBCD identifiziert werden konnte, bleibt das in der Literatur berichtete Vorkommen dieser Metabolite bislang ungeklärt und sollte weiterführend untersucht werden.

Zusammenfassend wurden in dieser Arbeit im Bereich der Biotransformation von HBCD erstmals enantiomerenspezifische Untersuchungen durchgeführt und Erklärungsansätze für die enantiomerenspezifische Anreicherung des HBCDs erbracht. Die Zuordnung der mono- und dihydroxylierten HBCD-Metabolite stellte ebenfalls ein Novum auf diesem Gebiet dar, sodass mit dieser Arbeit ein Beitrag zum besseren Verständnis der Prozesse von HBCD in der Umwelt geleistet werden konnte. Weiterhin konnte das ubiquitäre Vorkommen des polybromierten Flammenschutzmittels HBCD in den verschiedensten Biotaprobe verdeutlicht werden. Aufgrund der aktuellen Entwicklung in Bezug auf die Aufnahme von HBCD in REACH sowie die Kandidatenliste der POPs ist eine Beobachtung der in der Umwelt auftretenden Gehalte von höchster Relevanz. Die Entwicklung eines zertifizierten HBCD-Referenzmaterials ist für die analytische Qualitätssicherung zukünftig wünschenswert.

6 Literaturverzeichnis

- [1] Brushlinsky, N. N.; Hall, J. R.; Sokolov, S. V. und Wagner, P. (2008): World fire statistics, International Association of fire and rescue services, Nr. 13, Seite 1-55
- [2] Troitzsch, J. (1993): Flame Retardants; in: Gächter-Müller; Plastic Additives (Band 4), Hanser Publ, München
- [3] Green, J. (1996): Mechanisms for flame retardancy and smoke suppression - A review, Journal of Fire Sciences (Band 14), Nr. 6, Seite 426-442
- [4] Einsele, U. (1976): Über die Wirkungsweise und synergistische Effekte bei Flammenschutzmitteln für Chemiefasern, Lenzinger Berichte (Band 40), Seite 102-116
- [5] Leisewitz, A.; Kruse, H. und Schramm, S. (2004): Assessment Fundamentals for Substituting Flame Retardants, Büro für Umweltforschung und-beratung GmbH (Band 1), Seite 88-92
- [6] Ebert, J. und Bahadir, M. (2003): Formation of PBDD/F from flame-retarded plastic materials under thermal stress, Environment International (Band 29), Nr. 6, Seite 711-716
- [7] Europäische Kommission (2008): Risk Assessment Hexabromocyclododecane, Final Report May 2008 (Final approved version)
- [8] Heeb, N. V.; Schweizer, W. B.; Kohler, M. und Gerecke, A. C. (2005): Structure elucidation of hexabromocyclododecanes - a class of compounds with a complex stereochemistry, Chemosphere (Band 61), Nr. 1, Seite 65-73
- [9] Heeb, N. V.; Graf, H.; Schweizer, W. B. und Lienemann, P. (2010): Isobutoxypentabromocyclododecanes (iBPBCDs): A new class of polybrominated compounds, Chemosphere (Band 78), Nr. 8, Seite 950-957
- [10] Heeb, N. V.; Graf, H.; Schweizer, W. B. und Lienemann, P. (2010): Thermally-induced transformation of hexabromocyclododecanes and isobutoxypentabromocyclododecanes in flame-proofed polystyrene materials, Chemosphere (Band 80), Nr. 7, Seite 701-708
- [11] Heeb, N. V.; Zindel, D.; W., Bernd S. und Lienemann, P. (2012): 2,5,6,9,10-Pentabromocyclododecanols (PBCDOHs): A new class of HBCD transformation products, Chemosphere (Band 88), Nr. 5, Seite 655-662
- [12] Barontini, F.; Cozzani, V. und Petarca, L. (2001): Thermal stability and decomposition products of hexabromocyclododecane, Industrial & Engineering Chemistry Research (Band 40), Nr. 15, Seite 3270-3280
- [13] Groweiss, A.; Hermolin, J. und Goldberg, I. (1991): Bromination of 1Z, 5E, 9E - cyclododecatriene - a chemist's perspective, Advances in Organobromine Chemistry I, Industrial Chemistry Library, Vol. 3, Seite 61-67
- [14] Köppen, R. (2008): Hexabromocyclododecan in Biota: Struktur, thermische Isomerisierung und enantiomeren-spezifische Analytik, Dissertation, Humboldt Universität Berlin, Deutschland
- [15] Becher, G. (2005): The stereochemistry of 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane and its graphic representation, Chemosphere (Band 58), Nr. 7, Seite 989-991
- [16] Heeb, N. V.; Schweizer, W. B.; Mattrel, P.; Haag, R.; Gerecke, A. C.; Kohler, M.; Schmid, P.; Zennegg, M. und Wolfensberger, M. (2007): Solid-state conformations and absolute configurations of (+) and (-) alpha-, beta-, and gamma-hexabromocyclododecanes (HBCDs), Chemosphere (Band 68), Nr. 5, Seite 940-50
- [17] Heeb, N. V.; Schweizer, W. B.; Mattrel, P.; Haag, R. und Kohler, M. (2007): Crystal structure analysis of enantiomerically pure (+) and (-) beta-hexabromocyclododecanes, Chemosphere (Band 66), Nr. 8, Seite 1590-1594
- [18] Koeppen, R.; Becker, R.; Emmerling, F.; Jung, C. und Nehls, I. (2007): Enantioselective preparative HPLC separation of the HBCD - Stereoisomers from the technical product and their absolute structure elucidation using X-ray crystallography, Chirality (Band 19), Nr. 3, Seite 214-222
- [19] Peled, M.; Scharia, R. und Sondack, D. (1995): Thermal rearrangement of hexabromocyclododecane (HBCD), Advances in Organobromine Chemistry, Elsevier, Amsterdam
- [20] Arsenaault, G.; Chittim, B.; McAlees, A. und McCrindle, R. (2007): Nuclear magnetic resonance spectral characterization and semi-empirical calculations of conformations of alpha- and gamma-1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane, Chemosphere (Band 67), Nr. 9, Seite 1684-94
- [21] Riddell, N.; Becker, R.; Chittim, B.; Emmerling, F.; Koppen, R.; Lough, A.; McAlees, A. und McCrindle, R. (2011): Preparation and X-ray structural characterization of further stereoisomers of 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane, Chemosphere (Band 84), Nr. 7, Seite 900-907
- [22] Smith, K.; Liu, C. H.; El-Hiti, G. A.; Kang, G. S.; Jones, E.; Clement, S. G.; Checquer, A. D.; Howarth, O. W.; Hursthouse, M. B. und Coles, S. J. (2005): An extensive study of bromination of cis, trans, trans-1,5,9-

- cyclododecatriene: product structures and conformations, *Organic & Biomolecular Chemistry* (Band 3), Nr. 22, Seite 1880-1892
- [23] Köppen, R.; Becker, R.; Emmerling, F.; Jung, C. und Nehls, I. (2007): Enantioselective preparative HPLC separation of the HBCD - Stereoisomers from the technical product and their absolute structure elucidation using X-ray crystallography, *Chirality* (Band 19), Nr. 3, Seite 214-222
- [24] Köppen, R.; Becker, R.; Jung, C. und Nehls, I. (2008): On the thermally induced isomerisation of hexabromocyclododecane stereoisomers, *Chemosphere* (Band 71), Nr. 4, Seite 656-662
- [25] Hunziker, R. W.; Gonsior, S.; MacGregor, J. A.; Desjardins, D.; Ariano, J. und Friederich, U. (2004): Fate and effect of hexabromocyclododecane in the environment, *Organohalogen Compound* (Band 66), Seite 2300-2305
- [26] MacGregor, J.A. und Nixon, W.B. (1997): Hexabromocyclododecane (HBCD): Determination of n-octanol/water partition coefficient, *Wildlife International, Ltd.*, Easton, Maryland, USA, Nr. 439C-104, Seite 68
- [27] Hayward, S. J.; Lei, Y. D. und Wania, F. (2006): Comparative evaluation of three high-performance liquid chromatography-based K_{ow} estimation methods for highly hydrophobic organic compounds: Polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane, *Environmental Toxicology and Chemistry* (Band 25), Nr. 8, Seite 2018-2027
- [28] Albemarle® Corporation: Saytex® 9006L Flame Retardant (2000), <http://www.albemarle.com>, Zugriff: Dezember 2005
- [29] Europäische Kommission (2000): IUCLID Dataset, EINECS Name: hexabromocyclododecane
- [30] BSEF (2010): Bromine Science and Environmental Forum, <http://www.bsef.com/>, Zugriff: Dezember 2010
- [31] VECAP, Voluntary Emissions Control Action Programme (2008): Annual Progress Report 2008, Seite 1-12
- [32] VECAP, Voluntary Emissions Control Action Programme (2009): Annual Progress Report 2009, Seite 10-15
- [33] Europäische Chemikalienagentur (2008): Data on manufacture, import, export, uses and releases of HBCDD as well as information on potential alternatives to its use, Seite 1-108
- [34] Mühlbach, K.; Schmied, B.; Allemendinger, M.; Ruch, J. und Hahn, K. (2006): Verfahren zur Herstellung von Schaumstoffkörpern aus expandiertem Polystyrol; Patent Nr. DE102005021361A1 16.11.2006, Anmelder: BASF AG, 67063 Ludwigshafen. <http://www.patent-de.com/20061116/DE102005021361A1.html>
- [35] BVBSM (2011): Bundesministerium für Verkehr, Bau und Stadtentwicklung, http://www.bmvbs.de/DE/Home/home_node.html, Zugriff: Januar 2011
- [36] Kajiwara, N.; Noma, Y. und Takigami, H. (2011): Brominated and organophosphate flame retardants in selected consumer products on the Japanese market in 2008, *Journal of Hazardous Materials* (Band 192), Nr. 3, Seite 1250-1259
- [37] KEMI (2008): Risk assessment: Hexabromocyclododecane, Final report. http://esis.jrc.ec.europa.eu/doc/risk_assessment/REPORT/hbccdreport044.pdf
- [38] DIN EN 13163:2010-05: Wärmedämmstoffe für Gebäude - Werkmäßig hergestellte Produkte aus expandiertem Polystyrol (EPS) - Spezifikation; Deutsche Fassung prEN 13163:2010, Beuth Verlag, Berlin
- [39] LFGB:2011-08-22: Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch (Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch - LFGB), in der Fassung der Bekanntmachung vom 22. August 2011 (BGBl. I S. 1770), das zuletzt durch Artikel 2 des Gesetzes vom 15. März 2012 (BGBl. I S. 476) geändert worden ist, Beuth-Verlag, Berlin
- [40] Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Dezember 2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), zur Schaffung einer Europäischen Agentur für chemische Stoffe, zur Änderung der Richtlinie 1999/45/EG und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 793/93 des Rates, der Verordnung (EG) Nr. 1488/94 der Kommission, der Richtlinie 76/769/EWG des Rates sowie der Richtlinien 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/EG und 2000/21/EG der Kommission
- [41] Secretariat of the Stockholm Convention (2008): Stockholm Convention on persistent organic pollutants (POPs), <http://chm.pops.int/Home/tabid/36/language/en-US/Default.aspx>, Genf, Schweiz, Zugriff: März 2011
- [42] United States Environmental Protection Agency (2012): Existing Chemicals, <http://www.epa.gov/oppt/existingchemicals/index.html>, Stand Juli 2012
- [43] Department of the Environment (2011): Government notices, Order Adding a Toxic Substance to Schedule 1 to the Canadian Environmental Protection Act, 1999, *Canada Gazette* (Band 145), Nr. 46

-
- [44] Richtlinie 2011/65/EU:2011-06-08 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 8. Juni 2011 zur Beschränkung der Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe in Elektro- und Elektronikgeräten
- [45] Richtlinie 2002/96/EG:2003-01-27 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 27. Januar 2003 über Elektro- und Elektronik-Altgeräte
- [46] Verordnung (EU) Nr. 252/2012 der Kommission vom 21. März 2012 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle der Gehalte an Dioxinen, dioxinähnlichen PCB und nicht dioxinähnlichen PCB in bestimmten Lebensmitteln sowie zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1883/2006
- [47] Kommission, der Gemeinschaften Europäischen (2008): Vorschlag für eine Richtlinie des Europäischen Parlaments und des Rates zur Beschränkung der Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe in Elektro- und Elektronikgeräten (2008/0240 (COD))
- [48] Hoh, E. und Hites, R. A. (2005): Brominated flame retardants in the atmosphere of the east-central United States, *Environmental Science & Technology* (Band 39), Nr. 20, Seite 7794-7802
- [49] Yu, Z. Q.; Chen, L. G.; Maw, B. X.; Wu, M. H.; Sheng, G. Y.; Fu, J. und Peng, P. A. (2008): Diastereoisomer- and enantiomer-specific profiles of hexabromocyclododecane in the atmosphere of an urban city in South China, *Environmental Science & Technology* (Band 42), Nr. 11, Seite 3996-4001
- [50] Petersen, M.; Hamm, S.; Schäfer, A. und Esser, U. (2004): Comparative GC/MS and LC/MS detection of hexabromocyclododecane (HBCD) in soil and water samples, *Organohalogen Compounds* (Band 66), Seite 224-231
- [51] Law, R. J.; Allchin, C. R.; de Boer, J.; Covaci, A.; Herzke, D.; Lepom, P.; Morris, S.; Tronczynski, J. und de Wit, C. A. (2006): Levels and trends of brominated flame retardants in the European environment, *Chemosphere* (Band 64), Nr. 2, Seite 187-208
- [52] Šetková, L.; Hajšlová, J.; Bergqvist, P. A.; Kocourek, V.; Kazda, R. und Suchan, P. (2005): Fast isolation of hydrophobic organic environmental contaminants from exposed semipermeable membrane devices (SPMDs) prior to GC analysis, *Journal of Chromatography A* (Band 1092), Nr. 2, Seite 170-181
- [53] Kakimoto, K.; Akutsu, K.; Konishi, Y. und Tanaka, Y. (2008): Time trend of hexabromocyclododecane in the breast milk of Japanese women, *Chemosphere* (Band 71), Nr. 6, Seite 1110-1114
- [54] Thomsen, C.; Knutsen, H. K.; Liane, V. H.; Frøshaug, M.; Kvalem, H. E.; Haugen, M.; Meltzer, H. M.; Alexander, J. und Becher, G. (2008): Consumption of fish from a contaminated lake strongly affects the concentrations of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in serum, *Molecular Nutrition & Food Research* (Band 52), Nr. 2, Seite 228-237
- [55] Zhu, L. Y.; Ma, B. L. und Hites, R. A. (2009): Brominated Flame Retardants in Serum from the General Population in Northern China, *Environmental Science & Technology* (Band 43), Nr. 18, Seite 6963-6968
- [56] Kajiwar, N.; Sueoka, M.; Ohiwa, T. und Takigami, H. (2009): Determination of flame-retardant hexabromocyclododecane diastereomers in textiles, *Chemosphere* (Band 74), Nr. 11, Seite 1485-1489
- [57] Guerra, P.; Eliarrat, E. und Barceló, D. (2008): Enantiomeric specific determination of hexabromocyclododecane by liquid chromatography-quadrupole linear ion trap mass spectrometry in sediment samples, *Journal of Chromatography A* (Band 1203), Nr. 1, Seite 81-87
- [58] Harrad, S.; Abdallah, M. A. E. und Covaci, A. (2009): Causes of variability in concentrations and diastereomer patterns of hexabromocyclododecanes in indoor dust, *Environment International* (Band 35), Nr. 3, Seite 573-579
- [59] Vilaplana, F.; Karlsson, P.; Ribes-Greus, A.; Ivarsson, P. und Karlsson, S. (2008): Analysis of brominated flame retardants in styrenic polymers - Comparison of the extraction efficiency of ultrasonication, microwave-assisted extraction and pressurised liquid extraction, *Journal of Chromatography A* (Band 1196), Seite 139-146
- [60] Altwaiq, A. M.; Wolf, M. und van Eldik, R. (2003): Extraction of brominated flame retardants from polymeric waste material using different solvents and supercritical carbon dioxide, *Analytica Chimica Acta* (Band 491), Nr. 1, Seite 111-123
- [61] Kohler, M.; Zennegg, M.; Bogdal, C.; Gerecke, A. C.; Schmid, P.; Heeb, N. V.; Sturm, M.; Vonmont, H.; Kohler, H. P. E. und Giger, W. (2008): Temporal trends, congener patterns, and sources of Octa-, Nona-, and decabromodiphenyl ethers (PBDE) and hexabromocyclododecanes (HBCD) in Swiss lake sediments, *Environmental Science & Technology* (Band 42), Nr. 17, Seite 6378-6384
- [62] Covaci, A.; Voorspoels, S. und de Boer, J. (2003): Determination of brominated flame retardants, with emphasis on polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in environmental and human samples - a review, *Environment International* (Band 29), Nr. 6, Seite 735-756
- [63] Harrad, S.; Abdallah, M. A. E.; Rose, N. L.; Turner, S. D. und Davidson, T. A. (2009): Current-Use Brominated Flame Retardants in Water, Sediment, and Fish from English Lakes, *Environmental Science & Technology* (Band 43), Nr. 24, Seite 9077-9083

-
- [64] Law, K.; Halldorson, T.; Danell, R.; Stern, G.; Gewurtz, S.; Alaei, M.; Marvin, C.; Whittle, M. und Tomy, G. (2006): Bioaccumulation and trophic transfer of some brominated flame retardants in a Lake Winnipeg (Canada) food web, *Environmental Toxicology and Chemistry* (Band 25), Nr. 8, Seite 2177-2186
 - [65] Yu, Z. Q.; Peng, P. A.; Sheng, G. Y. und Fu, J. (2008): Determination of hexabromocyclododecane diastereoisomers in air and soil by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* (Band 1190), Nr. 1-2, Seite 74-79
 - [66] Bustnes, J. O.; Yoccoz, N. G.; Bangjord, G.; Polder, A. und Skaare, J. U. (2007): Temporal trends (1986-2004) of organochlorines and brominated flame retardants in tawny owl eggs from northern Europe, *Environmental Science & Technology* (Band 41), Nr. 24, Seite 8491-8497
 - [67] Hajšlová, J.; Pulkrabová, J.; Poustka, J.; Čajka, T. und Randák, T. (2007): Brominated flame retardants and related chlorinated persistent organic pollutants in fish from river Elbe and its main tributary Vltava, *Chemosphere* (Band 69), Nr. 8, Seite 1195-1203
 - [68] Jenssen, B. M.; Sormo, E. G.; Bæk, K.; Bytingsvik, J.; Gaustad, H.; Ruus, A. und Skaare, J. U. (2007): Brominated Flame Retardants in North-East Atlantic Marine Ecosystems, *Environmental Health Perspectives* (Band 115), Seite 35-41
 - [69] Pulkrabová, J.; Hajšlová, J.; Poustka, J. und Kazda, R. (2007): Fish as Biomonitoring of Polybrominated Diphenyl Ethers and Hexabromocyclododecane in Czech Aquatic Ecosystems: Pollution of the Elbe River Basin, *Environmental Health Perspectives* (Band 115), Seite 28-34
 - [70] Sormo, E. G.; Jenssen, B. M.; Lie, E. und Skaare, J. U. (2009): Brominated Flame Retardants in Aquatic Organisms from the North Sea in Comparison with Biota from the High Arctic Marine Environment, *Environmental Toxicology and Chemistry* (Band 28), Nr. 10, Seite 2082-2090
 - [71] Sormo, E. G.; Salmer, M. P.; Jenssen, B. M.; Hop, H.; Bæk, K.; Kovacs, K. M.; Lydersen, C.; Falk-Petersen, S.; Gabrielsen, G. W.; Lie, E. und Skaare, J. U. (2006): Biomagnification of polybrominated diphenyl ether and hexabromocyclododecane flame retardants in the polar bear food chain in Svalbard, Norway, *Environmental Toxicology and Chemistry* (Band 25), Nr. 9, Seite 2502-2511
 - [72] Stiehl, T.; Körner, A.; Ricking, M.; Sawal, G.; Warmbrunn-Suckrow, E. und Lepom, P. (2008): PBDE and HBCD levels in surface sediments from German rivers, *Organohalogen Compounds* (Band 70), Seite 1590-1593
 - [73] Takigami, H.; Suzuki, G.; Hirai, Y.; Ishikawa, Y.; Sunami, M. und Sakai, S. (2009): Flame retardants in indoor dust and air of a hotel in Japan, *Environment International* (Band 35), Nr. 4, Seite 688-693
 - [74] Zhang, X. L.; Yang, F. X.; Luo, C. H.; Wen, S.; Zhang, X. und Xu, Y. (2009): Bioaccumulative characteristics of hexabromocyclododecanes in freshwater species from an electronic waste recycling area in China, *Chemosphere* (Band 76), Nr. 11, Seite 1572-1578
 - [75] Zhou, S. N.; Reiner, E. J.; Marvin, C.; Helm, P.; Riddell, N.; Dorman, F.; Misselwitz, M.; Shen, L.; Crozier, P.; MacPherson, K. und Brindle, I. D. (2010): Development of liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry for analysis of halogenated flame retardants in wastewater, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (Band 396), Nr. 3, Seite 1311-1320
 - [76] Webster, L.; Walsham, P.; Russell, M.; Neat, F.; Phillips, L.; Dalgarno, E.; Packer, G.; Scurfield, J. A. und Moffat, C. F. (2009): Halogenated persistent organic pollutants in Scottish deep water fish, *Journal of Environmental Monitoring* (Band 11), Nr. 2, Seite 406-417
 - [77] Smedes, Foppe (1999): Determination of total lipid using non-chlorinated solvents, *Analyst* (Band 124), Nr. 11, Seite 1711-1718
 - [78] Zitko, V. (1994): TLC Detection of Brominated Flame Retardants in Styrofoam, *Chemosphere* (Band 28), Nr. 6, Seite 1211-1215
 - [79] Cheaib, Z.; Grandjean, D.; Kupper, T. und de Alencastro, L. F. (2009): Brominated Flame Retardants in Fish of Lake Geneva (Switzerland), *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* (Band 82), Nr. 4, Seite 522-527
 - [80] Hiebl, J. und Vetter, W. (2007): Detection of hexabromocyclododecane and its metabolite pentabromocyclododecene in chicken egg and fish from the official food control, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Band 55), Nr. 9, Seite 3319-3324
 - [81] Kupper, T.; de Alencastro, L. F.; Gatsigazi, R.; Furrer, R.; Grandjean, D. und Tarradellas, J. (2008): Concentrations and specific loads of brominated flame retardants in sewage sludge, *Chemosphere* (Band 71), Nr. 6, Seite 1173-1180
 - [82] Thomsen, C.; Stigum, H.; Frøshaug, M.; Broadwell, S. L.; Becher, G. und Eggesbø, M. (2010): Determinants of brominated flame retardants in breast milk from a large scale Norwegian study, *Environment International* (Band 36), Nr. 1, Seite 68-74
 - [83] Montie, E. W.; Letcher, R. J.; Reddy, C. M.; Moore, M. J.; Rubinstein, B. und Hahn, M. E. (2010): Brominated flame retardants and organochlorine contaminants in winter flounder, harp and hooded seals,

- and North Atlantic right whales from the Northwest Atlantic Ocean, Marine Pollution Bulletin (Band 60), Nr. 8, Seite 1160-1169
- [84] Fernie, K. J. und Letcher, R. J. (2010): Historical Contaminants, Flame Retardants, and Halogenated Phenolic Compounds in Peregrine Falcon (*Falco peregrinus*) Nestlings in the Canadian Great Lakes Basin, Environmental Science & Technology (Band 44), Nr. 9, Seite 3520-3526
- [85] Muir, D. C. G.; Backus, S.; Derocher, A. E.; Dietz, R.; Evans, T. J.; Gabrielsen, G. W.; Nagy, J.; Norstrom, R. J.; Sonne, C.; Stirling, I.; Taylor, M. K. und Letcher, R. J. (2006): Brominated flame retardants in polar bears (*Ursus maritimus*) from Alaska, the Canadian Arctic, East Greenland, and Svalbard, Environmental Science & Technology (Band 40), Nr. 2, Seite 449-455
- [86] McKinney, M. A.; Cesh, L. S.; Elliott, J. E.; Williams, T. D.; Garcelon, D. K. und Letcher, R. J. (2006): Brominated flame retardants and halogenated phenolic compounds in North American west coast bald eaglet (*Haliaeetus leucocephalus*) plasma, Environmental Science & Technology (Band 40), Nr. 20, Seite 6275-6281
- [87] Stapleton, H. M.; Dodder, N. G.; Kucklick, J. R.; Reddy, C. M.; Schantz, M. M.; Becker, P. R.; Gulland, F.; Porter, B. J. und Wise, S. A. (2006): Determination of HBCD, PBDEs and MeO-BDEs in California sea lions (*Zalophus californianus*) stranded between 1993 and 2003, Marine Pollution Bulletin (Band 52), Nr. 5, Seite 522-531
- [88] Ismail, N.; Gewurtz, S. B.; Pleskach, K.; Whittle, D. M.; Helm, P. A.; Marvin, C. H. und Tomy, G. T. (2009): Brominated and Chlorinated Flame Retardants in Lake Ontario, Canada, Lake Trout (*Salvelinus Namaycush*) between 1979 and 2004 and Possible Influences of Food-Web Changes, Environmental Toxicology and Chemistry (Band 28), Nr. 5, Seite 910-920
- [89] Eljarrat, E.; Guerra, P.; Martínez, E.; Farré, M.; Alvarez, J. G.; López-Teijón, M. und Barceló, D. (2009): Hexabromocyclododecane in Human Breast Milk: Levels and Enantiomeric Patterns, Environmental Science & Technology (Band 43), Nr. 6, Seite 1940-1946
- [90] Gomara, B.; Lebrón-Aguilar, R.; Quintanilla-López, J. E. und González, M. J. (2007): Development of a new method for the enantiomer specific determination of HBCD using an ion trap mass spectrometer, Analytica Chimica Acta (Band 605), Nr. 1, Seite 53-60
- [91] Guerra, P.; De La Cal, A.; Marsh, G.; Eljarrat, E. und Barceló, D. (2009): Transfer of hexabromocyclododecane from industrial effluents to sediments and biota: Case study in Cinca river (Spain), Journal of Hydrology (Band 369), Nr. 3-4, Seite 360-367
- [92] Harrad, S. und Abdallah, M. A. E. (2008): Calibration of two passive air sampler configurations for monitoring concentrations of hexabromocyclododecanes in indoor air, Journal of Environmental Monitoring (Band 10), Nr. 4, Seite 527-531
- [93] Huhtala, S.; Schultz, E.; Nakari, T.; MacInnis, G.; Marvin, C. und Alaee, M. (2006): Analysis of hexabromocyclododecanes and their hydroxy metabolites from in vitro and environmental samples by LC-MS/MS, Organohalogen Compounds (Band 68), Seite 1987-1990
- [94] Janák, K.; Sellström, U.; Johansson, A. K.; Becher, G.; de Wit, C. A.; Lindberg, P. und Helander, B. (2008): Enantiomer-specific accumulation of hexabromocyclododecanes in eggs of predatory birds, Chemosphere (Band 73), Nr. 1, Seite 193-200
- [95] Marvin, C. H.; Macinnis, G.; Alaee, M.; Arsénault, G. und Tomy, G. T. (2007): Factors influencing enantiomeric fractions of hexabromocyclododecane measured using liquid chromatography/tandem mass spectrometry, Rapid Communications in Mass Spectrometry (Band 21), Nr. 12, Seite 1925-30
- [96] Peck, A. M.; Pugh, R. S.; Moors, A.; Ellisor, M. B.; Porter, B. J.; Becker, P. R. und Kucklick, J. R. (2008): Hexabromocyclododecane in white-sided dolphins: Temporal trend and stereoisomer distribution in tissues, Environmental Science & Technology (Band 42), Nr. 7, Seite 2650-2655
- [97] Peck, A. M.; Tuerk, K. J. S.; Keller, J.; Kucklick, J. R. und Schantz, M. M. (2005): Hexabromocyclododecane Diastereomers and Enantiomers in White-Sided Dolphin Blubber and Liver Tissue, Organohalogen Compounds (Band 67), Seite 1259-1262
- [98] Gerecke, A. C.; Kohler, M.; Zennegg, M.; Schmid, P. und Heeb, N. V. (2003): Detection of alpha-isomer dominated HBCD (hexabromocyclododecane) in Swiss fish at levels comparable to PBDEs (polybrominated diphenyl ethers), Organohalogen Compounds (Band 61), Seite 155-158
- [99] Kakimoto, K.; Akutsu, K.; Konishi, Y. und Tanaka, Y. (2008): Evaluation of hexabromocyclododecane in fish and marine mammal oil supplements, Food Chemistry (Band 107), Nr. 4, Seite 1724-1727
- [100] Kim, G. B. und Stapleton, H. M. (2010): PBDEs, methoxylated PBDEs and HBCDs in Japanese common squid (*Todarodes pacificus*) from Korean offshore waters, Marine Pollution Bulletin (Band 60), Nr. 6, Seite 935-940

-
- [101] Schlummer, M.; Brandl, F.; Maurer, A. und van Eldik, R. (2005): Analysis of flame retardant additives in polymer fractions of waste of electric and electronic equipment (WEEE) by means of HPLC-UV/MS and GPC-HPLC-UV, *Journal of Chromatography A* (Band 1064), Nr. 1, Seite 39-51
- [102] Jin, J.; Yang, C. Q.; Wang, Y. und Liu, A. M. (2009): Determination of Hexabromocyclododecane Diastereomers in Soil by Ultra Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ion Source/Tandem Mass Spectrometry, *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (Band 37), Nr. 4, Seite 585-588
- [103] Evenset, A.; Christensen, G. N.; Carroll, J.; Zaborska, A.; Berger, U.; Herzke, D. und Gregor, D. (2007): Historical trends in persistent organic pollutants and metals recorded in sediment from Lake Ellasjoen, Bjornoya, Norwegian Arctic, *Environmental Pollution* (Band 146), Nr. 1, Seite 196-205
- [104] Knudsen, L. B.; Borgå, K.; Jorgensen, E. H.; van Bavel, B.; Schlabach, M.; Verreault, J. und Gabrielsen, G. W. (2007): Halogenated organic contaminants and mercury in northern fulmars (*Fulmarus glacialis*): levels, relationships to dietary descriptors and blood to liver comparison, *Environmental Pollution* (Band 146), Nr. 1, Seite 25-33
- [105] Morris, S.; Bersuder, P.; Allchin, C. R.; Zegers, B.; Boon, J. P.; Leonards, P. E. G. und de Boer, J. (2006): Determination of the brominated flame retardant, hexabromocyclodocane, in sediments and biota by liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry, *Trac-Trends in Analytical Chemistry* (Band 25), Nr. 4, Seite 343-349
- [106] Lagalante, A. F. und Oswald, T. D. (2008): Analysis of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) by liquid chromatography with negative-ion atmospheric pressure photoionization tandem mass spectrometry (LC/NI-APPI/MS/MS): application to house dust, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (Band 391), Nr. 6, Seite 2249-2256
- [107] Riu, A.; Cravedi, J. P.; Debrauwer, L.; Garcia, A.; Canlet, C.; Jouanin, I. und Zalko, D. (2008): Disposition and metabolic profiling of [C-14]-decabromodiphenyl ether in pregnant Wistar rats, *Environment International* (Band 34), Nr. 3, Seite 318-329
- [108] Zhou, S. N.; Reiner, E. J.; Marvin, C.; Kolic, T.; Riddell, N.; Helm, P.; Dorman, F.; Misselwitz, M. und Brindle, I. D. (2010): Liquid chromatography-atmospheric pressure photoionization tandem mass spectrometry for analysis of 36 halogenated flame retardants in fish, *Journal of Chromatography A* (Band 1217), Nr. 5, Seite 633-641
- [109] Ross, M. S. und Wong, C. S. (2010): Comparison of electrospray ionization, atmospheric pressure photoionization, and anion attachment atmospheric pressure photoionization for the analysis of hexabromocyclododecane enantiomers in environmental samples, *Journal of Chromatography A* (Band 1217), Nr. 50, Seite 7855-7863
- [110] Eljarrat, E.; De La Cal, A.; Raldua, D.; Duran, C. und Barceló, D. (2004): Occurrence and bioavailability of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in sediment and fish from the Cinca River, a tributary of the Ebro River (Spain), *Environmental Science & Technology* (Band 38), Nr. 9, Seite 2603-2608
- [111] McHugh, B.; Poole, R.; Corcoran, J.; Anninou, P.; Boyle, B.; Joyce, E.; Foley, M. B. und McGovern, E. (2010): The occurrence of persistent chlorinated and brominated organic contaminants in the European eel (*Anguilla anguilla*) in Irish waters, *Chemosphere* (Band 79), Nr. 3, Seite 305-313
- [112] Morris, S.; Allchin, C. R.; Zegers, B. N.; Haftka, J. J. H.; Boon, J. P.; Belpaire, C.; Leonards, P. E. G.; Van Leeuwen, S. P. J. und De Boer, J. (2004): Distribution and fate of HBCD and TBBPA brominated flame retardants in north sea estuaries and aquatic food webs, *Environmental Science & Technology* (Band 38), Nr. 21, Seite 5497-5504
- [113] Remberger, M.; Sternbeck, J.; Palm, A.; Kaj, L.; Strömberg, K. und Brorström-Lundén, E. (2004): The environmental occurrence of hexabromocyclododecane in Sweden, *Chemosphere* (Band 54), Nr. 1, Seite 9-21
- [114] DIN EN ISO/IEC 17025:2005-08: Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025:2005), Beuth Verlag, Berlin
- [115] Marvin, C. H.; Tomy, G. T.; Armitage, J. M.; Arnot, J. A.; McCarty, L.; Covaci, A. und Palace, V. (2011): Hexabromocyclododecane: Current Understanding of Chemistry, Environmental Fate and Toxicology and Implications for Global Management, *Environmental Science & Technology* (Band 45), Nr. 20, Seite 8613-8623
- [116] Haug, L. S.; Thomsen, C.; Liane, V. H. und Becher, G. (2008): Comparison of GC and LC determinations of hexabromocyclododecane in biological samples - Results from two interlaboratory comparison studies, *Chemosphere* (Band 71), Nr. 6, Seite 1087-1092
- [117] VECAP, Voluntary Emissions Control Action Programme (2007): Annual Progress Report 2007, Seite 1-15

-
- [118] Kemmlein, S.; Hahn, O. und Jann, O. (2003): Emissions of organophosphate and brominated flame retardants from selected consumer products and building materials, *Atmospheric Environment* (Band 37), Nr. 39-40, Seite 5485-5493
- [119] Braune, B. M.; Outridge, P. M.; Fisk, A. T.; Muir, D. C. G.; Helm, P. A.; Hobbs, K.; Hoekstra, P. F.; Kuzyk, Z. A.; Kwan, M.; Letcher, R. J.; Lockhart, W. L.; Norstrom, R. J.; Stern, G. A. und Stirling, I. (2005): Persistent organic pollutants and mercury in marine biota of the Canadian Arctic: An overview of spatial and temporal trends, *Science of the Total Environment* (Band 351), Seite 4-56
- [120] Verreault, J.; Gabrielsen, G. V.; Chu, S. G.; Muir, D. C. G.; Andersen, M.; Hamaed, A. und Letcher, R. J. (2005): Flame retardants and methoxylated and hydroxylated polybrominated diphenyl ethers in two Norwegian Arctic top predators: Glaucous gulls and polar bears, *Environmental Science & Technology* (Band 39), Nr. 16, Seite 6021-6028
- [121] de Wit, C. A.; Alae, M. und Muir, D. C. G. (2006): Levels and trends of brominated flame retardants in the Arctic, *Chemosphere* (Band 64), Nr. 2, Seite 209-233
- [122] Gebbink, W. A.; Sonne, C.; Dietz, R.; Kirkegaard, M.; Born, E. W.; Muir, D. C. G. und Letcher, R. J. (2008): Target tissue selectivity and burdens of diverse classes of brominated and chlorinated contaminants in polar bears (*Ursus maritimus*) from East Greenland, *Environmental Science & Technology* (Band 42), Nr. 3, Seite 752-759
- [123] Sagerup, K.; Helgason, L. B.; Polder, A.; Strom, H.; Josefsen, T. D.; Skare, J. U. und Gabrielsen, G. W. (2009): Persistent organic pollutants and mercury in dead and dying glaucous gulls (*Larus hyperboreus*) at Bjornoya (Svalbard), *Science of the Total Environment* (Band 407), Nr. 23, Seite 6009-6016
- [124] Stockholm, Convention (2009): Stockholm convention on persistent organic pollutants, Stand 2011, Quelle: <http://chm.pops.int/Home/tabid/36/language/en-GB/Default.aspx>
- [125] Stockholm, Convention on Persistent Organic Pollutants (2009): Report of the Persistent Organic Pollutants Review Committee on the work of its fifth meeting Seite 25-27
- [126] Wania, F. und Mackay, D. (1999): The evolution of mass balance models of persistent organic pollutant fate in the environment, *Environmental Pollution* (Band 100), Nr. 1-3, Seite 223-240
- [127] Hoff, J. T.; Gregor, D.; Mackay, D.; Wania, F. und Jia, C. Q. (1998): Measurement of the specific surface area of snow with the nitrogen adsorption technique, *Environmental Science & Technology* (Band 32), Nr. 1, Seite 58-62
- [128] Wania, F. (1997): Modelling the fate of non-polar organic chemicals in an ageing snow pack, *Chemosphere* (Band 35), Nr. 10, Seite 2345-2363
- [129] OceanCare (2010): Jahresbericht 2009, Seite 12-13, <http://www.oceancare.org>, Zugriff: Dezember 2010
- [130] DIN Deutsches Institut für Normung e.V. (2010): Internationales Wörterbuch der Metrologie: Grundlegende und allgemeine Begriffe und zugeordnete Benennungen (VIM) Deutsch-Englische Fassung ISO/IEC-Leitfaden 99:2007, 3. Auflage, Beuth Verlag, Berlin
- [131] International Bureau of Weights and Measures (2008): Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement; JCGM 100:2008 (GUM 1995 with minor corrections), erste Ausgabe September 2008
- [132] Schlabach, M.; Fjeld, E.; Gundersen, H.; Mariussen, E.; Kjellberg, G. und Breivik, E. (2004): Pollution of Lake Mjøsa by brominated flame retardants, *Organohalogen Compounds* (Band 66), Seite 3730-3736
- [133] Garcia-Valcarcel, A. I. und Tadeo, J. L. (2009): Determination of hexabromocyclododecane isomers in sewage sludge by LC-MS/MS, *Journal of Separation Science* (Band 32), Nr. 22, Seite 3890-3897
- [134] Covaci, A.; Gerecke, A. C.; Law, R. J.; Voorspoels, S.; Kohler, M.; Heeb, N. V.; Leslie, H.; Allchin, C. R. und de Boer, J. (2006): Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in the environment and humans: A review, *Environmental Science & Technology* (Band 40), Nr. 12, Seite 3679-3688
- [135] Law, K.; Palace, V. P.; Halldorson, T.; Danell, R.; Wautier, K.; Evans, B.; Alae, M.; Marvin, C. und Tomy, G. T. (2006): Dietary accumulation of hexabromocyclododecane diastereoisomers in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) I: Bioaccumulation parameters and evidence of bioisomerization, *Environmental Toxicology and Chemistry* (Band 25), Nr. 7, Seite 1757-1761
- [136] Fernie, Kim J.; Martenson, Sarah C.; Bird, David M.; Ritchie, Ian J. und Letcher, Robert J. (2011): Reproductive Changes in American Kestrels (*Falco Sparverius*) in Relation to Exposure to Technical Hexabromocyclododecane Flame Retardant, *Environmental Toxicology and Chemistry* (Band 30), Nr. 11, Seite 2570-2575
- [137] Zegers, B. N.; Mets, A.; Van Bommel, R.; Minkenberg, C.; Hamers, T.; Kamstra, J. H.; Pierce, G. J. und Boon, J. P. (2005): Levels of hexabromocyclododecane in harbor porpoises and common dolphins from western European seas, with evidence for stereoisomer-specific biotransformation by cytochrome P450, *Environmental Science & Technology* (Band 39), Nr. 7, Seite 2095-2100

- [138] Janák, K.; Covaci, A.; Voorspoels, S. und Becher, G. (2005): Hexabromocyclododecane in marine species from the Western Scheldt Estuary: Diastereoisomer- and enantiomer-specific accumulation, *Environmental Science & Technology* (Band 39), Nr. 7, Seite 1987-1994
- [139] Xian, Q. M.; Ramu, K.; Isobe, T.; Sudaryanto, A.; Liu, X. H.; Gao, Z. S.; Takahashi, S.; Yu, H. X. und Tanabe, S. (2008): Levels and body distribution of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hexabromocyclododecanes (HBCDs) in freshwater fishes from the Yangtze River, China, *Chemosphere* (Band 71), Nr. 2, Seite 268-276
- [140] Driffeld, M.; Harmer, N.; Bradley, E.; Fernandes, A. R.; Rose, M.; Mortimer, D. und Dicks, P. (2008): Determination of brominated flame retardants in food by LC-MS/MS: diastereoisomer-specific hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A, *Food Additives and Contaminants* (Band 25), Nr. 7, Seite 895-903
- [141] He, M. J.; Luo, X. J.; Yu, L. H.; Liu, J. A.; Zhang, X. L.; Chen, S. J.; Chen, D. und Mai, B. X. (2010): Tetrabromobisphenol-A and Hexabromocyclododecane in Birds from an E-Waste Region in South China: Influence of Diet on Diastereoisomer- and Enantiomer-Specific Distribution and Trophodynamics, *Environmental Science & Technology* (Band 44), Nr. 15, Seite 5748-5754
- [142] Law, R. J.; Kohler, M.; Heeb, N. V.; Gerecke, A. C.; Schmid, P.; Voorspoels, S.; Covaci, A.; Becher, G.; Janák, K. und Thomsen, C. (2005): Hexabromocyclododecane challenges scientists and regulators, *Environmental Science & Technology* (Band 39), Nr. 13, Seite 281a-287a
- [143] Pereira, R. C.; Monterroso, C.; Macias, F. und Camps-Arbestain, M. (2008): Distribution pathways of hexachlorocyclohexane isomers in a soil-plant-air system. A case study with *Cynara scolymus* L. and *Erica* sp plants grown in a contaminated site, *Environmental Pollution* (Band 155), Nr. 2, Seite 350-358
- [144] Köppen, R.; Esslinger, S.; Becker, R. und Nehls, N. (2009): Hexabromocyclododecan in heimischen Süßwasserfischen, *Nachrichten aus der Chemie* (Band 57), Nr. 9, Seite 901-904
- [145] Köppen, R.; Becker, R.; Esslinger, S. und Nehls, I. (2010): Enantiomer-specific analysis of hexabromocyclododecane in fish from Etnefjorden (Norway), *Chemosphere* (Band 80), Nr. 10, Seite 1241-1245
- [146] de Wit, C. A. (2002): An overview of brominated flame retardants in the environment, *Chemosphere* (Band 46), Nr. 5, Seite 583-624
- [147] Law, R. J.; Herzke, D.; Harrad, S.; Morris, S.; Bersuder, P. und Allchin, C. R. (2008): Levels and trends of HBCD and BDEs in the European and Asian environments, with some information for other BFRs, *Chemosphere* (Band 73), Nr. 2, Seite 223-241
- [148] Tanabe, S. (2008): Temporal trends of brominated flame retardants in coastal waters of Japan and South China: Retrospective monitoring study using archived samples from es-Bank, Ehime University, Japan, *Marine Pollution Bulletin* (Band 57), Nr. 6-12, Seite 267-274
- [149] de Wit, C. A.; Herzke, D. und Vorkamp, K. (2009): Brominated flame retardants in the Arctic environment — trends and new candidates, *Science of the Total Environment* (Band 408), Nr. 15, Seite 2885-2918
- [150] Luo, X. J.; Chen, S. J.; Mai, B. X. und Fu, J. M. (2010): Advances in the study of current-use non-PBDE brominated flame retardants and dechlorane plus in the environment and humans, *Science China-Chemistry* (Band 53), Nr. 5, Seite 961-973
- [151] Takigami, H.; Suzuki, G.; Hirai, Y. und Sakai, S. (2007): Comparison of brominated flame retardants in indoor air and dust samples from two homes in Japan, *Organohalogen Compounds* (Band 69), Seite 2785-2788
- [152] Abdallah, M. A. E.; Harrad, S. und Covaci, A. (2008): Hexabromocyclododecanes and tetrabromobisphenol-A in indoor air and dust in Birmingham, UK: Implications for human exposure, *Environmental Science & Technology* (Band 42), Nr. 18, Seite 6855-6861
- [153] Thomsen, C.; Molander, P.; Daae, H. L.; Janák, K.; Frøshaug, M.; Liane, V. H.; Thorud, S.; Becher, G. und Dybing, E. (2007): Occupational exposure to hexabromocyclododecane at an industrial plant, *Environmental Science & Technology* (Band 41), Nr. 15, Seite 5210-5216
- [154] Stapleton, H.; Dodder, N.; Schantz, M. und Wise, S. (2004): Measurement of the flame retardants Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) and Hexabromocyclododecane (HBCDD) in house dust, *Organohalogen Compounds* (Band 66), Seite 3691-3695
- [155] Abdallah, M. A. E.; Harrad, S.; Ibarra, C.; Diamond, M.; Melymuk, L.; Robson, M. und Covaci, A. (2008): Hexabromocyclododecanes in indoor dust from Canada, the United Kingdom, and the United States, *Environmental Science & Technology* (Band 42), Nr. 2, Seite 459-464
- [156] Stapleton, H. M.; Allen, J. G.; Kelly, S. M.; Konstantinov, A.; Klosterhaus, S.; Watkins, D.; McClean, M. D. und Webster, T. F. (2008): Alternate and new brominated flame retardants detected in US house dust, *Environmental Science & Technology* (Band 42), Nr. 18, Seite 6910-6916

-
- [157] D'Hollander, W.; Roosens, L.; Covaci, A.; Cornelis, C.; Reynders, H.; Van Campenhout, K.; de Voogt, P. und Bervoets, L. (2010): Brominated flame retardants and perfluorinated compounds in indoor dust from homes and offices in Flanders, Belgium, *Chemosphere* (Band 81), Nr. 4, Seite 478-487
- [158] de Wit, C. A.; Bjorklund, J. und Thuresson, K. (2012): Tri-decabrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in indoor air and dust from Stockholm microenvironments 2: Indoor sources and human exposure, *Environment International*, Nr. 39, Seite 141-147
- [159] Leonards, P.; Santillo, D.; Brigden, K.; Van der Veen, I.; Von Hesseltingen, J.; De Boer, J. und Johnston, P. (2001): Brominated flame retardants in office dust samples, *Proceedings of the Second International Workshop on Brominated Flame Retardants, BFR 2001, Stockholm, Sweden*, Seite 233-236
- [160] Santillo, D.; Labunska, I.; Davidson, H.; Johnston, P.; Strutt, M. und Knowles, O. (2003): Consuming chemicals: hazardous chemicals in house dust as an indicator of chemical exposure in the home, *Greenpeace Research Laboratories Report No. GRL-TN-01-2003, Exeter, UK.*, Seite 22-24
- [161] Al Bitar, F. (2004): Hazardous chemicals in Belgian house dust: report on chemical content in house dust samples collected in Belgian homes and offices, *Greenpeace, Brussel, Belgium*, Seite 17-38
- [162] Abdallah, M. A. E.; Ibarra, C.; Neels, H.; Harrad, S. und Covaci, A. (2008): Comparative evaluation of liquid chromatography-mass spectrometry versus gas chromatography-mass spectrometry for the determination of hexabromocyclododecanes and their degradation products in indoor dust, *Journal of Chromatography A* (Band 1190), Nr. 1-2, Seite 333-341
- [163] Goosey, E.; Abdallah, M. und Harrad, S. (2008): Dust from primary school and nursery classrooms in the UK: its significance as a pathway of exposure of young children to PFOS, PFOA, HBCDs, and TBBP-A, *Organohalogen Compounds* (Band 70), Seite 855-858
- [164] Abdallah, M. A.-E. und Harrad, S. (2009): Personal exposure to HBCDs and its degradation products via ingestion of indoor dust, *Environment International* (Band 35), Nr. 6, Seite 870-876
- [165] Dirtu, A. C. und Covaci, A. (2010): Estimation of Daily Intake of Organohalogenated Contaminants from Food Consumption and Indoor Dust Ingestion in Romania, *Environmental Science & Technology* (Band 44), Nr. 16, Seite 6297-6304
- [166] Harrad, S.; Goosey, E.; Desborough, J.; Abdallah, M. A. E.; Roosens, L. und Covaci, A. (2010): Dust from UK Primary School Classrooms and Daycare Centers: The Significance of Dust As a Pathway of Exposure of Young UK Children to Brominated Flame Retardants and Polychlorinated Biphenyls, *Environmental Science & Technology* (Band 44), Nr. 11, Seite 4198-4202
- [167] Wang, X.; Ren, N. Q.; Qi, H.; Ma, W. L. und Li, Y. F. (2009): Levels and distribution of brominated flame retardants in the soil of Harbin in China, *Journal of Environmental Sciences-China* (Band 21), Nr. 11, Seite 1541-1546
- [168] Gao, S. T.; Wang, J. Z.; Yu, Z. Q.; Guo, Q. R.; Sheng, G. Y. und Fu, J. M. (2011): Hexabromocyclododecanes in Surface Soils from E-Waste Recycling Areas and Industrial Areas in South China: Concentrations, Diastereoisomer- and Enantiomer-Specific Profiles, and Inventory, *Environmental Science & Technology* (Band 45), Nr. 6, Seite 2093-2099
- [169] Sellström, U.; Kierkegaard, A.; de Wit, C. und Jansson, B. (1998): Polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in sediment and fish from a Swedish river, *Environmental Toxicology and Chemistry* (Band 17), Nr. 6, Seite 1065-1072
- [170] Eljarrat, E. und Barceló, D. (2004): Sample handling and analysis of brominated flame retardants in soil and sludge samples, *Trac-Trends in Analytical Chemistry* (Band 23), Nr. 10-11, Seite 727-736
- [171] La Guardia, M. J.; Hale, R. C.; Harvey, E.; Mainor, T. M. und Ciparis, S. (2012): In Situ Accumulation of HBCD, PBDEs, and Several Alternative Flame-Retardants in the Bivalve (*Corbicula fluminea*) and Gastropod (*Elimia proxima*), *Environmental Science & Technology* (Band 46), Nr. 11, Seite 5798-5805
- [172] Klammer, H. J. C.; Leonards, P. E. G.; Lamoree, M. H.; Villerius, L. A.; Akerman, J. E. und Bakker, J. F. (2005): A chemical and toxicological profile of Dutch North Sea surface sediments, *Chemosphere* (Band 58), Nr. 11, Seite 1579-1587
- [173] Minh, N. H.; Isobe, T.; Ueno, D.; Matsumoto, K.; Mine, M.; Kajiwar, N.; Takahashi, S. und Tanabe, S. (2007): Spatial distribution and vertical profile of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecanes in sediment core from Tokyo Bay, Japan, *Environmental Pollution* (Band 148), Nr. 2, Seite 409-417
- [174] Bakke, T.; Boitsov, S.; Brevik, E. M.; Gabrielsen, G. W.; Green, N.; Helgason, L. B.; Klungsoyr, J.; Leknes, H.; Miljeteig, C.; Måge, A.; Rolfsnes, B. E.; Savinova, T.; Schlabach, M.; Skaare, B. B. und Valdernesnes, S. (2008): Mapping selected organic contaminants in the Barents Sea 2007, SPFO-report: 1021/2008, Norwegian Pollution Control Authority, Oslo, Norway, Oslo, Norway, Norwegian Pollution Control Authority

- [175] Haukås, M.; Hylland, K.; Berge, J. A.; Nygård, T. und Mariussen, E. (2009): Spatial diastereomer patterns of hexabromocyclododecane (HBCD) in a Norwegian fjord, *Science of the Total Environment* (Band 407), Nr. 22, Seite 5907-5913
- [176] Ramu, K.; Isobe, T.; Takahashi, S.; Kim, E. Y.; Min, B. Y.; We, S. U. und Tanabe, S. (2010): Spatial distribution of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecanes in sediments from coastal waters of Korea, *Chemosphere* (Band 79), Nr. 7, Seite 713-719
- [177] Ueno, D.; Isobe, T.; Ramu, K.; Tanabe, S.; Alae, M.; Marvin, C.; Inoue, K.; Someya, T.; Miyajima, T.; Kodama, H. und Nakata, H. (2010): Spatial distribution of hexabromocyclododecanes (HBCDs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and organochlorines in bivalves from Japanese coastal waters, *Chemosphere* (Band 78), Nr. 10, Seite 1213-1219
- [178] Tomy, G. T.; Budakowski, W.; Halldorson, T.; Whittle, D. M.; Keir, M. J.; Marvin, C.; Macinnis, G. und Alae, M. (2004): Biomagnification of alpha- and gamma-hexabromocyclododecane isomers in a Lake Ontario food web, *Environmental Science & Technology* (Band 38), Nr. 8, Seite 2298-2303
- [179] Allchin, C. R. und Morris, S. (2003): Hexabromocyclododecane (HBCD) diastereomers and brominated diphenyl ether congener (BDE) residues in edible fish from the rivers Skerne and Tees, U.K., *Organohalogen Compounds* (Band 61), Seite 41-44
- [180] Roosens, L.; Geeraerts, C.; Belpaire, C.; Van Pelt, I.; Neels, H. und Covaci, A. (2010): Spatial variations in the levels and isomeric patterns of PBDEs and HBCDs in the European eel in Flanders, *Environment International* (Band 36), Nr. 5, Seite 415-423
- [181] Rüdél, H.; Müller, J.; Quack, M. und Klein, R. (2012): Monitoring of hexabromocyclododecane diastereomers in fish from European freshwaters and estuaries, *Environmental Science and Pollution Research* (Band 19), Nr. 3, Seite 772-783
- [182] Chen, D.; La Guardia, M. J.; Luellen, D. R.; Harvey, E.; Mainor, T. M. und Hale, R. C. (2011): Do Temporal and Geographical Patterns of HBCD and PBDE Flame Retardants in US Fish Reflect Evolving Industrial Usage?, *Environmental Science & Technology* (Band 45), Nr. 19, Seite 8254-8261
- [183] Verslycke, T. A.; Vethaak, A. D.; Arijs, K. und Janssen, C. R. (2005): Flame retardants, surfactants and organotins in sediment and mysid shrimp of the Scheldt estuary (The Netherlands), *Environmental Pollution* (Band 136), Nr. 1, Seite 19-31
- [184] Asplund, L.; Bignert, A. und Nylund, K. (2004): Comparison of spatial and temporal trends of methoxylated PBDEs, PBDEs, and hexabromocyclododecane in herring along the Swedish coast *Organohalogen Compounds* (Band 66), Seite 3938-3943
- [185] Law, R. J.; Bersuder, P.; Allchin, C. R. und Barry, J. (2006): Levels of the flame retardants hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A in the blubber of harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded or bycaught in the UK, with evidence for an increase in HBCD concentrations in recent years, *Environmental Science & Technology* (Band 40), Nr. 7, Seite 2177-2183
- [186] Law, R. J.; Bersuder, P.; Barry, J.; Wilford, B. H.; Allchin, C. R. und Jepson, P. D. (2008): A Significant Downturn in Levels of Hexabromocyclododecane in the Blubber of Harbor Porpoises (*Phocoena phocoena*) Stranded or Bycaught in the UK: An Update to 2006, *Environmental Science & Technology* (Band 42), Nr. 24, Seite 9104-9109
- [187] Johnson-Restrepo, B.; Adams, D. H. und Kannan, K. (2008): Tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexabromocyclododecanes (HBCDs) in tissues of humans, dolphins, and sharks from the United States, *Chemosphere* (Band 70), Nr. 11, Seite 1935-1944
- [188] Marsh, G.; Athanasiadou, M.; Athanassiadis, I.; Bergman, Å.; Endo, T. und Haraguchi, K. (2005): Identification, quantification, and synthesis of a novel dimethoxylated polybrominated biphenyl in marine mammals caught off the coast of Japan, *Environmental Science & Technology* (Band 39), Nr. 22, Seite 8684-8690
- [189] Tomy, G. T.; Pleskach, K.; Oswald, T.; Halldorson, T.; Helm, P. A.; Macinnis, G. und Marvin, C. H. (2008): Enantioselective bioaccumulation of hexabromocyclododecane and congener-specific accumulation of brominated diphenyl ethers in an eastern Canadian Arctic marine food web, *Environmental Science & Technology* (Band 42), Nr. 10, Seite 3634-3639
- [190] Sellström, U.; Bignert, A.; Kierkegaard, A.; Haggberg, L.; De Wit, C. A.; Olsson, M. und Jansson, B. (2003): Temporal trend studies on tetra- and pentabrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in guillemot egg from the Baltic Sea, *Environmental Science & Technology* (Band 37), Nr. 24, Seite 5496-5501
- [191] Braune, B. M.; Mallory, M. L.; Gilchrist, H. G.; Letcher, R. J. und Drouillard, K. G. (2007): Levels and trends of organochlorines and brominated flame retardants in Ivory Gull eggs from the Canadian Arctic, 1976 to 2004, *Science of the Total Environment* (Band 378), Nr. 3, Seite 403-417
- [192] Polder, A.; Venter, B.; Skaare, J. U. und Bouwman, H. (2008): Polybrominated diphenyl ethers and HBCD in bird eggs of South Africa, *Chemosphere* (Band 73), Nr. 2, Seite 148-154

-
- [193] Guerra, P.; Alae, M.; Jimenez, B.; Pacepavicius, G.; Marvin, C.; MacInnis, G.; Eljarrat, E.; Barceló, D.; Champoux, L. und Fernie, K. (2012): Emerging and historical brominated flame retardants in peregrine falcon (*Falco peregrinus*) eggs from Canada and Spain, *Environment International* (Band 40), Seite 179-186
- [194] Kunisue, T.; Takayanagi, N.; Isobe, T.; Takahashi, S.; Nakatsu, S.; Tsubota, T.; Okumoto, K.; Bushisue, S.; Shindo, K. und Tanabe, S. (2008): Regional trend and tissue distribution of brominated flame retardants and persistent organochlorines in raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) from Japan, *Environmental Science & Technology* (Band 42), Nr. 3, Seite 685-691
- [195] AMAP (2004): (Arctic Monitoring and Assessment Programme). AMAP Assessment 2002: Persistent Organic Pollutants in the Arctic, Oslo, Norway
- [196] Harrad, S.; de Wit, C. A.; Abdallah, M. A. E.; Bergh, C.; Bjorklund, J. A.; Covaci, A.; Darnerud, P. O.; de Boer, J.; Diamond, M.; Huber, S.; Leonards, P.; Mandalakis, M.; Oestman, C.; Haug, L. S.; Thomsen, C. und Webster, T. F. (2010): Indoor Contamination with Hexabromocyclododecanes, Polybrominated Diphenyl Ethers, and Perfluoroalkyl Compounds: An Important Exposure Pathway for People?, *Environmental Science & Technology* (Band 44), Nr. 9, Seite 3221-3231
- [197] Glynn, A.; Lignell, S.; Darnerud, P. O.; Aune, M.; Ankarberg, E. H.; Bergdahl, I. A.; Barregard, L. und Bensryd, I. (2011): Regional differences in levels of chlorinated and brominated pollutants in mother's milk from primiparous women in Sweden, *Environment International* (Band 37), Nr. 1, Seite 71-79
- [198] Ryan, J.J.; Wainman, B.C.; Schecter, A.; Moisey, J.; Kosarac, I. und Sun, W.F. (2006): Trends of the brominated flame retardants, PBDEs and HBCD, in human milks from North America, *Organohalogen Compounds* (Band 68), Seite 778-781
- [199] Polder, A.; Thomsen, C.; Lindström, G.; Løken, K. B. und Skaare, J. U. (2008): Levels and temporal trends of chlorinated pesticides, polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants in individual human breast milk samples from Northern and Southern Norway, *Chemosphere* (Band 73), Nr. 1, Seite 14-23
- [200] Devanathan, G.; Subramanian, A.; Sudaryanto, A.; Takahashi, S.; Isobe, T. und Tanabe, S. (2012): Brominated flame retardants and polychlorinated biphenyls in human breast milk from several locations in India: Potential contaminant sources in a municipal dumping site, *Environment International*, Nr. 39, Seite 87-95
- [201] Asante, K. A.; Adu-Kumi, S.; Nakahiro, K.; Takahashi, S.; Isobe, T.; Sudaryanto, A.; Devanathan, G.; Clarke, E.; Ansa-Asare, O. D.; Dapaah-Siakwan, S. und Tanabe, S. (2011): Human exposure to PCBs, PBDEs and HBCDs in Ghana: Temporal variation, sources of exposure and estimation of daily intakes by infants, *Environment International* (Band 37), Nr. 5, Seite 921-928
- [202] Meijer, L.; Weiss, J.; Van Velzen, M.; Brouwer, A.; Bergman, Å. und Sauerf, P. J. J. (2008): Serum concentrations of neutral and phenolic organohalogenes in pregnant women and some of their infants in the Netherlands, *Environmental Science & Technology* (Band 42), Nr. 9, Seite 3428-3433
- [203] Pulkrabová, J.; Hrádková, P.; Hajšlová, J.; Poustka, J.; Nápravníková, M. und Poláček, V. (2009): Brominated flame retardants and other organochlorine pollutants in human adipose tissue samples from the Czech Republic, *Environment International* (Band 35), Nr. 1, Seite 63-68
- [204] Europäische, Gemeinschaft (2002): Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit
- [205] Rawn, D. F. K.; Sadler, A.; Lau, B. P. Y. und Ryan, J. J. (2009): Hexabromocyclododecane (HBCD) in egg yolks from market bound canadian chicken eggs, *Organohalogen Compounds* (Band 71), Seite 1257-1261
- [206] Nakagawa, R.; Murata, S.; Ashizuka, Y.; Shintani, Y.; Hori, T. und Tsutsumi, T. (2010): Hexabromocyclododecane determination in seafood samples collected from Japanese coastal areas, *Chemosphere* (Band 81), Nr. 4, Seite 445-452
- [207] Shi, Z. X.; Wu, Y. N.; Li, J. G.; Zhao, Y. F. und Feng, J. F. (2009): Dietary Exposure Assessment of Chinese Adults and Nursing Infants to Tetrabromobisphenol-A and Hexabromocyclododecanes: Occurrence Measurements in Foods and Human Milk, *Environmental Science & Technology* (Band 43), Nr. 12, Seite 4314-4319
- [208] Knutsen, H. K.; Kvale, H. E.; Thomsen, C.; Frøshaug, M.; Haugen, M.; Becher, G.; Alexander, J. und Meltzer, H. M. (2008): Dietary exposure to brominated flame retardants correlates with male blood levels in a selected group of Norwegians with a wide range of seafood consumption, *Molecular Nutrition & Food Research* (Band 52), Nr. 2, Seite 217-227
- [209] Hermanson, M. H.; Isaksson, E.; Forsstrom, S.; Texeira, C.; Muir, D. C. G.; Pohjola, V. A. und van de Wal, R. S. V. (2010): Deposition History of Brominated Flame Retardant Compounds in an Ice Core from Høltedahlfonna, Svalbard, Norway, *Environmental Science & Technology* (Band 44), Nr. 19, Seite 7405-7410

-
- [210] Fängström, B.; Athanassiadis, L.; Odsjö, T.; Norén, K. und Bergman, Å. (2008): Temporal trends of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in milk from Stockholm mothers, 1980-2004, *Molecular Nutrition & Food Research* (Band 52), Nr. 2, Seite 187-193
 - [211] Knudsen, L.B.; Gabrielsen, G.W.; Verreault, J.; Barrett, R.; Skare, J.U.; Polder, A. und Lie, E. (2005): Temporal trends of brominated flame retardants, cyclododeca-1,5,9- triene and mercury in eggs of four sea bird species from Northern Norway and Svalbard, Norwegian Pollution Control Authority. , Report 942/205. <<http://www.sft.no/publikasjoner/overvaking/2134/ta2134.pdf>>.
 - [212] Vorkamp, K.; Thomsen, M.; Falk, K.; Leslie, H.; Möller, S. und Sørensen, P. B. (2005): Temporal development of brominated flame retardants in peregrine falcon (*Falko peregrinus*) eggs from South Greenland (1986-2003), *Environmental Science & Technology* (Band 39), Nr. 21, Seite 8199-8206
 - [213] Darnerud, P. O. (2003): Toxic effects of brominated flame retardants in man and in wildlife, *Environment International* (Band 29), Nr. 6, Seite 841-53
 - [214] Wilson, P. D. und Leong, B. K. J. (1977): Acute toxicity studies in rabbits and rats. Test material Firemaster 100 Lot 53 77.902, International Research and Development Corporation. Sponsored by: Velsicol Chemical Corporation (nicht öffentlich) Seite 163–499
 - [215] Dean, W. P. und Leong, B. K. J. (1977): Acute toxicity studies in rabbits and rats. Study No. 163- 499, International Research and Development, Sponsor: Velsicol Chemical
 - [216] Hakk, H. und Letcher, R. J. (2003): Metabolism in the toxicokinetics and fate of brominated flame retardants - a review, *Environment International* (Band 29), Nr. 6, Seite 801-828
 - [217] Zeller, H. und Kirsch, P. (1969): Hexabromocyclododecane: 28-day feeding trials with rats, BASF. EPA/OTS Doc #86-900000376
 - [218] Hu, J.; Liang, Y.; Chen, M. J. und Wang, X. R. (2009): Assessing the Toxicity of TBBPA and HBCD by Zebrafish Embryo Toxicity Assay and Biomarker Analysis, *Environmental Toxicology* (Band 24), Nr. 4, Seite 334-342
 - [219] Yu, C. C. und Atallah, Y. H. (1980): Pharmacokinetics of HBCD in rats, Velsicol Chemical Cooperation (unveröffentlichte Zeitschrift, ins Englische übersetzt)
 - [220] Johansson, A. K.; Sellström, U.; Lindberg, P.; Bignert, A. und de Wit, C. A. (2011): Temporal trends of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in Swedish Peregrine Falcon (*Falco peregrinus peregrinus*) eggs, *Environment International* (Band 37), Nr. 4, Seite 678-686
 - [221] Vorkamp, K.; Riget, F. F.; Bossi, R. und Dietz, R. (2011): Temporal Trends of Hexabromocyclododecane, Polybrominated Diphenyl Ethers and Polychlorinated Biphenyls in Ringed Seals from East Greenland, *Environmental Science & Technology* (Band 45), Nr. 4, Seite 1243-1249
 - [222] Kuiper, R. V.; Cantón, R. F.; Leonards, P. E. G.; Jenssen, B. M.; Dubbeldam, M.; Wester, P. W.; van den Berg, M.; Vos, J. G. und Vethaak, A. D. (2007): Long-term exposure of European flounder (*Platichthys flesus*) to the flame-retardants tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexabromocyclododecane (HBCD), *Ecotoxicology and Environmental Safety* (Band 67), Nr. 3, Seite 349-360
 - [223] Szabo, D. T.; Diliberto, J. J.; Huwe, J. K. und Birnbaum, L. S. (2011): Differences in Tissue Distribution of HBCD Alpha and Gamma between Adult and Developing Mice, *Toxicological Sciences* (Band 123), Nr. 1, Seite 256-263
 - [224] Szabo, D. T.; Diliberto, J. J.; Hakk, H.; Huwe, J. K. und Birnbaum, L. S. (2011): Toxicokinetics of the Flame Retardant Hexabromocyclododecane Alpha: Effect of Dose, Timing, Route, Repeated Exposure, and Metabolism, *Toxicological Sciences* (Band 121), Nr. 2, Seite 234-244
 - [225] Fournier, A.; Feidt, C.; Marchand, P.; Venisseau, A.; Le Bizec, B.; Sellier, N.; Engel, E.; Ratel, J.; Travel, A. und Jondreville, C. (2012): Kinetic study of gamma-hexabromocyclododecane orally given to laying hens (*Gallus domesticus*) "Transfer of HBCD in laying hens", *Environmental Science and Pollution Research* (Band 19), Nr. 2, Seite 440-447
 - [226] Nyholm, J. R.; Norman, A.; Norrgren, L.; Haglund, P. und Andersson, P. L. (2008): Maternal transfer of brominated flame retardants in zebrafish (*Danio rerio*), *Chemosphere* (Band 73), Nr. 2, Seite 203-208
 - [227] Brandsma, S. H.; van der Ven, L. T. M.; de Boer, J. und Leonards, P. E. G. (2009): Identification of Hydroxylated Metabolites of Hexabromocyclododecane in Wildlife and 28-days Exposed Wistar Rats, *Environmental Science & Technology* (Band 43), Nr. 15, Seite 6058-6063
 - [228] Germer, S.; Piersma, A. H.; van der Ven, L.; Kamyschnikow, A.; Fery, Y.; Schmitz, H. J. und Schrenk, D. (2006): Subacute effects of the brominated flame retardants hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A on hepatic cytochrome P450 levels in rats, *Toxicology* (Band 218), Nr. 2-3, Seite 229-236
 - [229] Cantón, R. F.; Peijnenburg, A. A. C. M.; Hoogenboom, R. L. A. P.; Piersma, A. H.; van der Ven, L. T. M.; van den Berg, M. und Henneveer, M. (2008): Subacute effects of hexabromocyclododecane (HBCD) on hepatic gene expression profiles in rats, *Toxicology and Applied Pharmacology* (Band 231), Nr. 2, Seite 267-272

-
- [230] Zhang, X.; Yang, F.; Zhang, X.; Xu, Y.; Liao, T.; Song, S. und Wang, H. (2008): Induction of hepatic enzymes and oxidative stress in Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to waterborne hexabromocyclododecane (HBCDD), *Aquatic Toxicology* (Band 86), Nr. 1, Seite 4-11
- [231] Crump, D.; Chiu, S.; Egloff, C. und Kennedy, S. W. (2008): Effects of Hexabromocyclododecane and Polybrominated Diphenyl Ethers on mRNA Expression in Chicken (*Gallus domesticus*) Hepatocytes, *Toxicological Sciences* (Band 106), Nr. 2, Seite 479-487
- [232] Crump, D.; Egloff, C.; Chiu, S.; Letcher, R. J.; Chu, S. und Kennedy, S. W. (2010): Pipping Success, Isomer-Specific Accumulation, and Hepatic mRNA Expression in Chicken Embryos Exposed to HBCD, *Toxicological Sciences* (Band 115), Nr. 2, Seite 492-500
- [233] Fery, Y.; Buschauer, I.; Salzig, C.; Lang, P. und Schrenk, D. (2009): Technical pentabromodiphenyl ether and hexabromocyclododecane as activators of the pregnane-X-receptor (PXR), *Toxicology* (Band 264), Nr. 1-2, Seite 45-51
- [234] Palace, V. P.; Pleskach, K.; Halldorson, T.; Danell, R.; Wautier, K.; Evans, B.; Alae, M.; Marvin, C. und Tomy, G. T. (2008): Biotransformation enzymes and thyroid axis disruption in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to hexabromocyclododecane diastereoisomers, *Environmental Science & Technology* (Band 42), Nr. 6, Seite 1967-1972
- [235] Covaci, A.; Weijs, L.; Roosens, L.; Berger, M. L.; Neels, H.; Blust, R. und Shaw, S. D. (2009): Accumulation of hexabromocyclododecanes (HBCDs) and their metabolites in pup and adult harbour seals from the Northwest Atlantic, *Organohalogen Compounds* (Band 71), Seite 1486-1491
- [236] Lo, K. W.; Saha-Roy, S. C. und Jans, U. (2012): Investigation of the reaction of hexabromocyclododecane with polysulfide and bisulfide in methanol/water solutions, *Chemosphere* (Band 87), Nr. 2, Seite 158-162
- [237] Yamada, T.; Takahama, Y. und Yamada, Y. (2009): Isolation of *Pseudomonas* sp Strain HB01 Which Degrades the Persistent Brominated Flame Retardant gamma-Hexabromocyclododecane, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* (Band 73), Nr. 7, Seite 1674-1678
- [238] Davis, J. W.; Gonsior, S.; Marty, G. und Ariano, J. (2005): The transformation of hexabromocyclododecane in aerobic and anaerobic soils and aquatic sediments, *Water Research* (Band 39), Nr. 6, Seite 1075-1084
- [239] Davis, J. W.; Gonsior, S. J.; Markham, D. A.; Friederich, U.; Hunziker, R. W. und Ariano, J. M. (2006): Biodegradation and product identification of [C-14]hexabromocyclododecane in wastewater sludge and freshwater aquatic sediment, *Environmental Science & Technology* (Band 40), Nr. 17, Seite 5395-5401
- [240] Heeb, N. V.; Zindel, D.; Geueke, B.; Kohler, H.-P. E. und Lienemann, P. (2012): Biotransformation of Hexabromocyclododecanes (HBCDs) with LinB-An HCH-Converting Bacterial Enzyme, *Environmental Science & Technology* (Band 46), Nr. 12, Seite 6566-6574
- [241] Gerecke, A. C.; Giger, W.; Hartmann, P. C.; Heeb, N. V.; Kohler, H. P. E.; Schmid, P.; Zennegg, M. und Kohler, M. (2006): Anaerobic degradation of brominated flame retardants in sewage sludge, *Chemosphere* (Band 64), Nr. 2, Seite 311-317
- [242] Eriksson, P.; Fischer, C.; Wallin, M.; Jakobsson, E. und Fredriksson, A. (2006): Impaired behaviour, learning and memory, in adult mice neonatally exposed to hexabromocyclododecane (HBCDD), *Environmental Toxicology and Pharmacology* (Band 21), Nr. 3, Seite 317-322
- [243] Eriksson, P.; Viberg, H.; Fischer, C.; Wallin, M. und Fredriksson, A. (2002): A comparison on developmental neurotoxic effects of hexabromocyclododecane, 2,2',4,4',5,5'-hexabromodiphenylether (PBDE 153) and 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (PCB 153), *Organohalogen Compounds* (Band 57), Seite 389-390
- [244] Mariussen, E. und Fonnum, F. (2002): The effect of pentabromodiphenylether, hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol-A on dopamine uptake into rat brain synaptosomes, *Organohalogen Compounds* (Band 57), Seite 395-398
- [245] Mariussen, E. und Fonnum, F. (2003): The effect of brominated flame retardants on neurotransmitter uptake into rat brain synaptosomes and vesicles, *Neurochemistry International* (Band 43), Nr. 4-5, Seite 533-542
- [246] Lilienthal, H.; van der Ven, L. T. M.; Piersma, A. H. und Vos, J. G. (2009): Effects of the brominated flame retardant hexabromocyclododecane (HBCD) on dopamine-dependent behavior and brainstem auditory evoked potentials in a one-generation reproduction study in Wistar rats, *Toxicology Letters* (Band 185), Nr. 1, Seite 63-72
- [247] Reistad, T.; Fonnum, F. und Mariussen, E. (2006): Neurotoxicity of the pentabrominated diphenyl ether mixture, DE-71, and hexabromocyclododecane (HBCD) in rat cerebellar granule cells in vitro, *Archives of Toxicology* (Band 80), Nr. 11, Seite 785-796
- [248] Reistad, T.; Mariussen, E. und Fonnum, F. (2002): The effect of brominated flame retardants on cell death and radical formation in cerebellar granule cells, *Organohalogen Compounds* (Band 57), Seite 391-394

-
- [249] Deng, J.; Yu, L. Q.; Liu, C. S.; Yu, K.; Shi, X. J.; Yeung, L. W. Y.; Lam, P. K. S.; Wu, R. S. S. und Zhou, B. S. (2009): Hexabromocyclododecane-induced developmental toxicity and apoptosis in zebrafish embryos, *Aquatic Toxicology* (Band 93), Nr. 1, Seite 29-36
 - [250] Dingemans, M. M. L.; Heusinkveld, H. J.; de Groot, A.; Bergman, Å.; van den Berg, M. und Westerink, R. H. S. (2009): Hexabromocyclododecane Inhibits Depolarization-Induced Increase in Intracellular Calcium Levels and Neurotransmitter Release in PC12 Cells, *Toxicological Sciences* (Band 107), Nr. 2, Seite 490-497
 - [251] Sakai, H.; Yamada-Okabe, T.; Kashima, Y.; Matsui, M.; Aona, T.; Aoyagi, M. und Hasegawa, J. (2003): Effects of brominated flame retardants on transcriptional activation mediated by thyroid hormone receptor, *Organohalogen Compounds* (Band 61), Seite 215-215
 - [252] Yamada-Okabe, T.; Sakai, H.; Kashima, Y. und Yamada-Okabe, H. (2005): Modulation at a cellular level of the thyroid hormone receptor-mediated gene expression by 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD), 4,4'-diiodobiphenyl (DIB), and nitrofen (NIP), *Toxicology Letters* (Band 155), Nr. 1, Seite 127-133
 - [253] Saegusa, Y.; Fujimoto, H.; Woo, G. H.; Inoue, K.; Takahashi, M.; Mitsumori, K.; Hirose, M.; Nishikawa, A. und Shibutani, M. (2009): Developmental toxicity of brominated flame retardants, tetrabromobisphenol A and 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane, in rat offspring after maternal exposure from mid-gestation through lactation, *Reproductive Toxicology* (Band 28), Nr. 4, Seite 456-467
 - [254] van der Ven, L. T. M.; Verhoef, A.; van de Kuil, T.; Slob, W.; Leonards, P. E. G.; Visser, T. J.; Hamers, T.; Herlin, M.; Hakansson, H.; Olausson, H.; Piersma, A. H. und Vos, J. G. (2006): A 28-day oral dose toxicity study enhanced to detect endocrine effects of hexabromocyclododecane in wistar rats, *Toxicological Sciences* (Band 94), Nr. 2, Seite 281-292
 - [255] Schriks, M.; Zvinavashe, E.; Furlow, J. D. und Murk, A. J. (2006): Disruption of thyroid hormone-mediated *Xenopus laevis* tadpole tail tip regression by hexabromocyclododecane (HBCD) and 2,2',3,3',4,4',5,5',6-nona brominated diphenyl ether (BDE206), *Chemosphere* (Band 65), Nr. 10, Seite 1904-1908
 - [256] Dorosh, A.; Ded, L.; Elzeinova, F. und Peknicova, J. (2009): Hexabromocyclododecane but not tetrabromobisphenol A promotes MCF-7 proliferation and TFF1 gene upregulation, *Journal of Reproductive Immunology* (Band 81), Nr. 2, Seite 153-153
 - [257] Ema, M.; Fujii, S.; Hirata-Koizumi, M. und Matsumoto, M. (2008): Two-generation reproductive toxicity study of the flame retardant hexabromocyclododecane in rats, *Reproductive Toxicology* (Band 25), Nr. 3, Seite 335-351
 - [258] Palace, V.; Park, B.; Pleskach, K.; Gemmill, B. und Tomy, G. (2010): Altered thyroxine metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to hexabromocyclododecane (HBCD), *Chemosphere* (Band 80), Nr. 2, Seite 165-169
 - [259] Lower, N. und Moore, A. (2007): The impact of a brominated flame retardant on smoltification and olfactory function in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* (Band 40), Nr. 4, Seite 267-284
 - [260] Aniagu, S. O.; Williams, T. D. und Chipman, J. K. (2009): Changes in gene expression and assessment of DNA methylation in primary human hepatocytes and HepG2 cells exposed to the environmental contaminants-Hexabromocyclododecane and 17-beta oestradiol, *Toxicology* (Band 256), Nr. 3, Seite 143-151
 - [261] Aniagu, S. O.; Williams, T. D.; Allen, Y.; Katsiadaki, I. und Chipman, J. K. (2008): Global genomic methylation levels in the liver and gonads of the three-spine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) after exposure to hexabromocyclododecane and 17-beta oestradiol, *Environment International* (Band 34), Nr. 3, Seite 310-317
 - [262] van der Ven, L. T. M.; van de Kuil, T.; Leonards, P. E. G.; Slob, W.; Lilienthal, H.; Litens, S.; Herlin, M.; Hakansson, H.; Cantón, R. F.; van den Berg, M.; Visser, T. J.; van Loveren, H.; Vos, J. G. und Piersma, A. H. (2009): Endocrine effects of hexabromocyclododecane (HBCD) in a one-generation reproduction study in Wistar rats, *Toxicology Letters* (Band 185), Nr. 1, Seite 51-62
 - [263] van der Ven, L. T. M.; Lilienthal, H.; Van De Kuil, A. und Piersma, A. H. (2007): Endocrine effects of hexabromocyclododecane (HBCD) in a one-generation reproduction study in Wistar rats, *Birth Defects Research Part a-Clinical and Molecular Teratology* (Band 79), Nr. 5, Seite 412-412
 - [264] Helleday, T.; Tuominen, K. L.; Bergman, Å. und Jenssen, D. (1999): Brominated flame retardants induce intragenic recombination in mammalian cells, *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* (Band 439), Nr. 2, Seite 137-147
 - [265] Chengelis, C. P. (2001): A 90-day oral (gavage) toxicity study of HBCD in rats, *Wil Research Laboratories*, Ashland, OH, USA, Seite 1527

-
- [266] Zhang, X. L.; Yang, F. X.; Xu, C.; Liu, W. P.; Wen, S. und Xu, Y. (2008): Cytotoxicity evaluation of three pairs of hexabromocyclododecane (HBCD) enantiomers on Hep G2 cell, *Toxicology in Vitro* (Band 22), Nr. 6, Seite 1520-1527
- [267] Fernie, K. J.; Shutt, J. L.; Letcher, R. J.; Ritchie, I. J. und Bird, D. M. (2009): Environmentally Relevant Concentrations of DE-71 and HBCD Alter Eggshell Thickness and Reproductive Success of American Kestrels, *Environmental Science & Technology* (Band 43), Nr. 6, Seite 2124-2130
- [268] Smolarz, K. und Berger, A. (2009): Long-term toxicity of hexabromocyclododecane (HBCDD) to the benthic clam *Macoma balthica* (L.) from the Baltic Sea, *Aquatic Toxicology* (Band 95), Nr. 3, Seite 239-247
- [269] Hinkson, N. C. und Whalen, M. M. (2009): Hexabromocyclododecane decreases the lytic function and ATP levels of human natural killer cells, *Journal of Applied Toxicology* (Band 29), Nr. 8, Seite 656-661
- [270] Hinkson, N. C. und Whalen, M. M. (2010): Hexabromocyclododecane decreases tumor-cell-binding capacity and cell-surface protein expression of human natural killer cells, *Journal of Applied Toxicology* (Band 30), Nr. 4, Seite 302-309
- [271] Watanabe, W.; Shimizu, T.; Sawamura, R.; Hino, A.; Konno, K.; Hirose, A. und Kurokawa, M. (2010): Effects of tetrabromobisphenol A, a brominated flame retardant, on the immune response to respiratory syncytial virus infection in mice, *International Immunopharmacology* (Band 10), Nr. 4, Seite 393-397
- [272] Thomsen, C.; Leknes, H.; Lundanes, E. und Becher, G. (2001): Brominated flame retardants in laboratory air, *Journal of Chromatography A* (Band 923), Nr. 1-2, Seite 299-304
- [273] Umweltbundesamt (2008): German Environmental Specimen Bank - Concept 2008, <http://www.umweltprobenbank.de/en/documents/11426>, Zugriff: September 2011
- [274] Umweltbundesamt (2009): German Environmental Specimen Bank - Standard Operating Procedures, <http://www.umweltprobenbank.de/en/documents/10022>, Zugriff: September 2011
- [275] Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313), das zuletzt durch Artikel 20 des Gesetzes vom 9. Dezember 2010 (BGBl. I S. 1934) geändert worden ist
- [276] Verordnung zum Schutz von Tieren im Zusammenhang mit der Schlachtung oder Tötung (Tierschutz-Schlachtverordnung - TierSchlV) vom 3. März 1997 (BGBl. I S. 405), die durch Artikel 19 des Gesetzes vom 13. April 2006 (BGBl. I S. 855) geändert worden ist
- [277] Lake, B. G. (1987): Preparation and characterization of microsomal fractions for studies on xenobiotic metabolism, Mullok, K. Snell and B., *Biochemical Toxicology: A Practical Approach* Seite 183-215, IRL Press, Oxford
- [278] Kulling, S. E. (1996): Untersuchung zur Genotoxizität und zum in vitro-Metabolismus des Phytoestrogens Coumestrol, Dissertation, Fachbereich Chemie, Universität Kaiserslautern
- [279] Bradford, M. M. (1976): Rapid and Sensitive Method for Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing Principle of Protein-Dye Binding, *Analytical Biochemistry* (Band 72), Nr. 1-2, Seite 248-254
- [280] Omura, T. und Sato, R. (1964): Carbon Monoxide-Binding Pigment of Liver Microsomes .2. Solubilization Purification + Properties, *Journal of Biological Chemistry* (Band 239), Nr. 7, Seite 2379
- [281] He, K.; Ludtke, S. J.; Heller, W. T. und Huang, H. W. (1996): Mechanism of alamethicin insertion into lipid bilayers, *Biophysical journal* (Band 71), Nr. 5, Seite 2669-2679
- [282] Fisher, M.B.; Campanale, K.; Ackermann, B.L.; VandenBranden, M. und Wrighton, S.A. (2000): In vitro glucuronidation using human liver microsomes and the pore-forming peptide alamethicin, *Drug Metabolism and Disposition* (Band 28), Nr. 5, Seite 560-566
- [283] Furness, R. W. und Monaghan, P. (1987): Seabird ecology, Blackie, Glasgow
- [284] Gilbertson, M.; Elliot, J. E. und Peakall, D. B. (1987): Seabirds as indicators of marine pollution, *The Value of Birds* (Band 6) Seite 231-248, ICBP Technical Public, Cambridge
- [285] Funk, W.; Dammann, V. und Donnevert, G. (1992): Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie Seite 56-98, VCH, Weinheim
- [286] DIN 51777-1 1983-03: Prüfung von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen und Lösungsmitteln; Bestimmung des Wassergehaltes nach Karl Fischer; Direktes Verfahren, Beuth Verlag, Berlin
- [287] DIN 10772-2:2005-05: Untersuchung von Kaffee und Kaffee-Erzeugnissen - Bestimmung des Wassergehaltes nach Karl Fischer - Teil 2: Referenzverfahren für Kaffee-Extrakt, Beuth Verlag, Berlin
- [288] DIN EN ISO 12937:2002-03: Mineralölerzeugnisse - Bestimmung des Wassergehaltes - Coulometrische Titration nach Karl Fischer (ISO 12937:2000), Beuth Verlag, Berlin
- [289] Bruker (1997): SAINT, Data Collection and Processing Software for the SMART System, Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA
- [290] Sheldrick, G. M. (1996): SADABS, Programm zur Absorptionskorrektur von Flächenzählerdaten, Universität Göttingen

-
- [291] Sheldrick, G. M. (2008): A short history of SHELX, *Acta Crystallographica Section A* (Band 64), Seite 112-122
- [292] Weber, M.; Becker, R.; Durmaz, V. und Koppen, R. (2008): Classical hybrid Monte-Carlo simulation of the interconversion of hexabromocyclododecane stereoisomers, *Molecular Simulation* (Band 34), Nr. 7, Seite 727-736
- [293] Guerler, A.; Moll, S.; Weber, A.; Meyer, H. und Cordes, F. (2008): Selection and flexible optimization of binding modes from conformation ensembles, *Biosystems* (Band 92), Nr. 1, Seite 42-48
- [294] Halgren, T. A. und Nachbar, R. B. (1996): Merck molecular force field .4. Conformational energies and geometries for MMFF94, *Journal of Computational Chemistry* (Band 17), Nr. 5-6, Seite 587-615
- [295] Riedmiller, M. und Braun, H. (1993): A direct adaptive method for faster backpropagation learning: The Rprop algorithm, *Proceedings of the IEEE International Conference on Neural Networks*
- [296] Totrov, M. und Abagyan, R. (1996): The contour-buildup algorithm to calculate the analytical molecular surface, *Journal of Structural Biology* (Band 116), Nr. 1, Seite 138-143
- [297] Brass, A.; Pendleton, B. J.; Chen, Y. und Robson, B. (1993): Hybrid Monte-Carlo Simulations Theory and Initial Comparison with Molecular-Dynamics, *Biopolymers* (Band 33), Nr. 8, Seite 1307-1315
- [298] Gelman, A. und Rubin, D. (1992): Inference from iterative simulation using multiple sequences, *Statistical Science* (Band 7), Seite 457-511
- [299] Hestenes, M. und Stiefel, E. (1952): Methods of conjugate gradients for solving linear systems, *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology* (Band 49), Seite 409-436
- [300] Frisch, M.; Trucks, G. und Schlegel, H. (2009): Gaussian 09, Revision A.1. Gaussian Inc. Wallingford CT
- [301] Becke, A. D. (1988): Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic-Behavior, *Physical Review A* (Band 38), Nr. 6, Seite 3098-3100
- [302] Becke, A. D. (1993): Density-Functional Thermochemistry .3. The Role of Exact Exchange, *Journal of Chemical Physics* (Band 98), Nr. 7, Seite 5648-5652
- [303] Lee, C. T.; Yang, W. T. und Parr, R. G. (1988): Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron-Density, *Physical Review B* (Band 37), Nr. 2, Seite 785-789
- [304] DePaul, A. J.; Thompson, E. J.; Patel, S. S.; Haldeman, K. und Sorin, E. J. (2010): Equilibrium conformational dynamics in an RNA tetraloop from massively parallel molecular dynamics, *Nucleic Acids Research* (Band 38), Nr. 14, Seite 4856-4867
- [305] Park, H.; Lee, S. und Suh, J. (2005): Structural and dynamical basis of broad substrate specificity, catalytic mechanism, and inhibition of cytochrome P450 3A4, *Journal of the American Chemical Society* (Band 127), Nr. 39, Seite 13634-13642
- [306] Hess, B.; Kutzner, C.; van der Spoel, D. und Lindahl, E. (2008): GROMACS 4: Algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation, *Journal of Chemical Theory and Computation* (Band 4), Nr. 3, Seite 435-447
- [307] Mahoney, M. W. und Jorgensen, W. L. (2000): A five-site model for liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, nonpolarizable potential functions, *Journal of Chemical Physics* (Band 112), Nr. 20, Seite 8910-8922
- [308] NWI CEN/TC 230/WG 1: Water Quality - Guideline to the validation of analytical methods, Stand der Bearbeitung 2011-07
- [309] Mandel, J. (1964): The statistical analysis of experimental Data, Interscience publishers, J. Wiley & Sons, New York
- [310] Kromidas, S. (2007): Validierung in der Analytik. Die Praxis der instrumentellen Analytik, Wiley-VCH, Weinheim
- [311] DIN 32645:2008-11: Chemische Analytik - Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen - Begriffe, Verfahren, Auswertung, Beuth Verlag, Berlin
- [312] DIN ISO 11843-2:2006-06: Erkennungsfähigkeit - Teil 2: Verfahren im Fall der linearen Kalibrierung (ISO 11843-2:2000; Text Deutsch, Englisch), Beuth Verlag, Berlin
- [313] DIN ISO 5725-2: 2002-12: Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen - Teil 2: Grundlegende Methode für Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-2:1994 einschließlich Technisches Korrigendum 1:2002), Beuth Verlag, Berlin
- [314] DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (Deutsche Übersetzung), Beuth Verlag GmbH, 1995
- [315] EURACHEM/CITAC Guide CG 4: Quantifying uncertainty in analytical measurement, Editor: Ellison, S., Rosslein, M., Williams, A.; 2. Auflage, 2004

-
- [316] Cifuentes, J. M.; Becker, P. H.; Sommer, U.; Pacheco, P. und Schlatter, R. (2003): Seabird eggs as bioindicators of chemical contamination in Chile, *Environmental Pollution* (Band 126), Nr. 1, Seite 123-137
- [317] Fent, K. (2007): Ökotoxikologie. Umweltchemie, Toxikologie, Ökologie, Thieme, Stuttgart, 2. Auflage
- [318] Furness, R. W. (1993): Birds as a monitors of pollutants, *Birds as Monitors of environmental Change*, Chapman and Hall, London
- [319] Murvoll, K. M.; Skaare, J. U.; Moe, B.; Anderssen, E. und Jenssen, B. M. (2006): Spatial trends and associated biological responses of organochlorines and brominated flame retardants in hatchlings of North Atlantic kittiwakes (*Rissa tridactyla*), *Environmental Toxicology and Chemistry* (Band 25), Nr. 6, Seite 1648-1656
- [320] Murvoll, K. M.; Skaare, J. U.; Anderssen, E. und Jenssen, B. M. (2006): Exposure and effects of persistent organic pollutants in European shag (*Phalacrocorax aristotelis*) hatchlings from the coast of Norway, *Environmental Toxicology and Chemistry* (Band 25), Nr. 1, Seite 190-198
- [321] Helgason, L. B.; Polder, A.; Føreid, S.; Bæk, K.; Lie, E.; Gabrielsen, G. W.; Barrett, R. T. und Skaare, J. U. (2009): Levels and Temporal Trends (1983-2003) of Polybrominated Diphenyl Ethers and Hexabromocyclododecanes in Seabird Eggs from North Norway, *Environmental Toxicology and Chemistry* (Band 28), Nr. 5, Seite 1096-1103
- [322] Leslie, H. A.; Leonards, P. E. G.; Shore, R. F.; Walker, L. A.; Bersuder, P. R. C.; Morris, S.; Allchin, C. R. und de Boer, J. (2011): Decabromodiphenylether and hexabromocyclododecane in wild birds from the United Kingdom, Sweden and The Netherlands: Screening and time trends, *Chemosphere* (Band 82), Nr. 1, Seite 88-95
- [323] Haukås, M.; Hylland, K.; Nygård, T.; Berge, J. A. und Mariussen, E. (2010): Diastereomer-specific bioaccumulation of hexabromocyclododecane (HBCD) in a coastal food web, Western Norway, *Science of the Total Environment* (Band 408), Nr. 23, Seite 5910-5916
- [324] Umweltprobenbank (2012): http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/speciem_types/10169, Zugriff: Januar 2012
- [325] Oxyinos, K.; Schmitzer, J. und Kettrup, A. (1993): Herring gull eggs as bioindicators for chlorinated hydrocarbons (contribution to the German Federal Environmental Specimen Bank), *Science of The Total Environment* (Band 139-140), Seite 387-398
- [326] Harris, M. P. (1964): Recoveries of ringed Herring Gulls, *Bird Study* (Band 11), Nr. 3, Seite 183-191
- [327] Chen, D.; Letcher, R. J.; Burgess, N. M.; Champoux, L.; Elliott, J. E.; Hebert, C. E.; Martin, P.; Wayland, M.; Chip Weseloh, D. V. und Wilson, L. (2012): Flame retardants in eggs of four gull species (*Laridae*) from breeding sites spanning Atlantic to Pacific Canada, *Environmental Pollution* (Band 168), Seite 1-9
- [328] Szabo, D. T.; Diliberto, J. J.; Hakk, H.; Huwe, J. K. und Birnbaum, L. S. (2010): Toxicokinetics of the Flame Retardant Hexabromocyclododecane Gamma: Effect of Dose, Timing, Route, Repeated Exposure, and Metabolism, *Toxicological Sciences* (Band 117), Nr. 2, Seite 282-293
- [329] Kubetzki, U.; Garthe, S. und Hüppop, O. (1999): The diet of common gulls *Larus canus* breeding on the German North Sea coast, *Atlantic Seabirds* (Band 1), Nr. 2, Seite 57-70
- [330] Esslinger, S.; Becker, R.; Jung, C.; Schroter-Kermani, C.; Bremser, W. und Nehls, I. (2011): Temporal trend (1988-2008) of hexabromocyclododecane enantiomers in herring gull eggs from the german coastal region, *Chemosphere* (Band 83), Nr. 2, Seite 161-167
- [331] Richtlinie 2003/11/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 6. Februar 2003 zur 24. Änderung der Richtlinie 76/769/EWG des Rates über Beschränkungen des Inverkehrbringens und der Verwendung gewisser gefährlicher Stoffe und Zubereitungen (Pentabromdiphenylether, Octabromdiphenylether) (Abl. EU Nr. L 42 vom 15/02/2003, S. 45-46)
- [332] Suzuki, S. und Hasegawa, A. (2006): Determination of hexabromocyclododecane diastereoisomers and tetrabromobisphenol a in water and sediment by liquid chromatography/mass spectrometry, *Analytical Sciences* (Band 22), Nr. 3, Seite 469-474
- [333] Ilyina, T. und Hunziker, R. W. (2010): Scenarios of Temporal and Spatial Evolution of Hexabromocyclododecane in the North Sea, *Environmental Science & Technology* (Band 44), Nr. 12, Seite 4622-4628
- [334] Harner, T.; Wiberg, K. und Norstrom, R. (2000): Enantiomer fractions are preferred to enantiomer ratios for describing chiral signatures in environmental analysis, *Environmental Science & Technology* (Band 34), Nr. 1, Seite 218-220
- [335] Wada, E.; Terazaki, M.; Kabaya, Y. und Nemoto, T. (1987): ¹⁵N and ¹³C abundances in the Antarctic Ocean with emphasis on the biogeochemical structure of the food web, *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* (Band 34), Nr. 5-6, Seite 829-841
- [336] Sydeman, W. J.; Hobson, K. A.; Pyle, P. und McLaren, E. B. (1997): Trophic relationships among seabirds in central California: combined stable isotope and conventional dietary approach, *The Condor* (Band 99), Seite 327-336

-
- [337] Kelly, J. F. (2000): Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology, *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* (Band 78), Nr. 1, Seite 1-27
 - [338] Umweltprobenbank (2012): <http://www.umweltprobenbank.de/>, Zugriff: Januar 2012
 - [339] Schäfer, W. R.; Zharadnik, H. P.; Frijus-Plessen, N. und Schneider, K. (1995): Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung: Auswahl von expositionsrelevanten Xenoestrogenen. *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung, Forschungsbericht*
 - [340] Umweltbewegung in der DDR, Abfallwirtschaft, <http://umwelt-ddr.argus-potsdam.de/>, Zugriff Juni 2012
 - [341] Meyerhoff, J; Petschow, U und Thomasberger, C (1990): *Umweltreport DDR (1990)*, Fischer Verlag, Frankfurt
 - [342] Mariussen, E. und Schlabach, M. (2011): Contaminants in fish from Etnesfjord, Norway, *Climate and Pollution Agency*
 - [343] Tomy, G. T.; Pleskach, K.; Ferguson, S. H.; Hare, J.; Stern, G.; Macinnis, G.; Marvin, C. H. und Loseto, L. (2009): Trophodynamics of Some PFCs and BFRs in a Western Canadian Arctic Marine Food Web, *Environmental Science & Technology* (Band 43), Nr. 11, Seite 4076-4081
 - [344] Dodder, N. G.; Peck, A. M.; Kucklick, J. R. und Sander, L. C. (2006): Analysis of hexabromocyclododecane diastereomers and enantiomers by liquid chromatography/tandem mass spectrometry: Chromatographic selectivity and ionization matrix effects, *Journal of Chromatography A* (Band 1135), Nr. 1, Seite 36-42
 - [345] Li, H.; Mo, L.; Yu, Z.; Sheng, G. und Fu, Jiamo (2012): Levels, isomer profiles and chiral signatures of particle-bound hexabromocyclododecanes in ambient air around Shanghai, China, *Environmental Pollution* (Band 165), Seite 140-146
 - [346] Kessler, W. (2006): *Multivariate Datenanalyse für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik; Ein Lehrbuch* (Band 1), Wiley-VCH Verlag, Weinheim
 - [347] Ortiz, X.; Guerra, P.; Diaz-Ferrero, J.; Eljarrat, E. und Barceló, D. (2011): Diastereoisomer- and enantiomer-specific determination of hexabromocyclododecane in fish oil for food and feed, *Chemosphere* (Band 82), Nr. 5, Seite 739-744
 - [348] Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (2010): *Bundeslebensmittelschlüssel, Lebensmittel*, Max Rubner-Institut; Bundesforschungsinstitut für Ernährung und. Karlsruhe, 2012, Februar 2012
 - [349] Busacker, G. P.; Adelman, I. R. und Goolish, E. M. (1990): Growth. In Schreck, C. B. & Moyle, P. B. (eds), *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA, Seite 363–387
 - [350] Russell, N. R.; Fish, J. D. und Wootton, R. J. (1996): Feeding and growth of juvenile sea bass: the effect of ration and temperature on growth rate and efficiency, *Journal of Fish Biology* (Band 49), Nr. 2, Seite 206-220
 - [351] Du, Miaomiao; Lin, Lifeng; Yan, Changzhou und Zhang, Xian (2012): Diastereoisomer- and Enantiomer-Specific Accumulation, Depuration, and Bioisomerization of Hexabromocyclododecanes in Zebrafish (*Danio rerio*), *Environmental Science & Technology* (Band 46), Nr. 20, Seite 11040-11046
 - [352] Esslinger, S.; Becker, R.; Müller-Belecke, A.; Bremser, W.; Jung, C. und Nehls, I. (2010): HBCD Stereoisomer Pattern in Mirror Carps Following Dietary Exposure to Pure gamma-HBCD Enantiomers, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Band 58), Nr. 17, Seite 9705-9710
 - [353] Wolff, T. und Schwarz, L. R. (2005): *Fremdstoffmetabolismus, Toxikologie: Eine Einführung für Naturwissenschaftler und Mediziner*, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim
 - [354] Hakk, Heldur; Szabo, David T.; Huwe, Janice; Diliberto, Janet und Birnbaum, Linda S. Novel and Distinct Metabolites Identified Following a Single Oral Dose of I^{\pm} - or I^3 -Hexabromocyclododecane in Mice, *Environmental Science & Technology*. In press
 - [355] Arnot, J. A.; Armitage, J. M.; McCarty, L. S.; Wania, F.; Cousins, I. T. und Toose-Reid, L. (2011): Toward a Consistent Evaluative Framework for POP Risk Characterization, *Environmental Science & Technology* (Band 45), Nr. 1, Seite 97-103
 - [356] Esslinger, S.; Becker, R.; Maul, R. und Nehls, I. (2011): Hexabromocyclododecane Enantiomers: Microsomal Degradation and Patterns of Hydroxylated Metabolites, *Environmental Science & Technology* (Band 45), Nr. 9, Seite 3938-3944
 - [357] Cartus, A. T.; Merz, K.-H. und Schrenk, D. (2011): Metabolism of Methylisoeugenol in Liver Microsomes of Human, Rat, and Bovine Origin, *Drug Metabolism & Disposition* (Band 39), Nr. 9, Seite 1727-1733
 - [358] Engst, R.; Macholz, R. M. und Kujawa, M (1978): Metaboliten von Hexachlorcyclohexanisomeren (HCH) im menschlichen Blut, *Pharmazie* (Band 33), Nr. 2-3, Seite 109-111
 - [359] Yamamoto, T.; Egashira, T.; Yamanaka, Y.; Yoshida, T. und Kuroiwa, Y. (1983): Initial Metabolism of Gamma-Hexachlorocyclohexane (Gamma-Hch) by Rat-Liver Microsomes, *Journal of Pharmacobio-Dynamics* (Band 6), Nr. 10, Seite 721-728

- [360] Krishna, R. (2004): Applications of pharmacokinetic principles in drug development, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York
- [361] Guan, Z.; Chen, X.; Wang, Y. und Zhong, D. (2008): Metabolite identification of a new antitumor agent icotinib in rats using liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* (Band 22), Nr. 14, Seite 2176-2184
- [362] Gibson, G. G. und Skett, P. (2001): Introduction to drug metabolism, Nelson Thornes
- [363] Montellano, P. R. O. (2005): Cytochrome P450: structure, mechanism, and biochemistry, Kluwer Academic/Plenum Publishers
- [364] Oppermann, Udo C. T. und Maser, Edmund (2000): Molecular and structural aspects of xenobiotic carbonyl metabolizing enzymes. Role of reductases and dehydrogenases in xenobiotic phase I reactions, *Toxicology* (Band 144), Nr. 1-3, Seite 71-81
- [365] Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (2012): Protein Data Bank, <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>, Zugriff: März 2012
- [366] Marquardt, H. und Schäfer, S. G. (2004): Lehrbuch der Toxikologie (Band 2), Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft
- [367] Nelson, D. R.; Koymans, L.; Kamataki, T.; Stegeman, J. J.; Feyereisen, R.; Waxman, D. J.; Waterman, M. R.; Gotoh, O.; Coon, M. J.; Estabrook, R. W.; Gunsalus, I. C. und Nebert, D. W. (1996): P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature, *Pharmacogenetics* (Band 6), Nr. 1, Seite 1-42
- [368] Durmaz, V.; Weber, M. und Becker, R. (2012): How to simulate affinities for host-guest systems lacking binding mode information: application to the liquid chromatographic separation of hexabromocyclododecane stereoisomers, *Journal of Molecular Modeling* (Band 18), Nr. 6, Seite 2399-2408
- [369] Abdallah, M. A. und Harrad, S. (2011): Tetrabromobisphenol-A, hexabromocyclododecane and its degradation products in UK human milk: Relationship to external exposure, *Environment International* (Band 37), Nr. 2, Seite 443-448
- [370] Bellucci, G.; Marsili, A.; Mastroi, E.; Morelli, I. und Scartoni, V. (1974): Kinetics of Thermal Racemization of Some 1,2-Dihalides, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2*, Nr. 2, Seite 201-204
- [371] Hu, J. C.; Jin, J.; Wang, Y.; Ma, Z. H. und Zheng, W. J. (2011): Levels of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in the atmosphere and tree bark from Beijing, China, *Chemosphere* (Band 84), Nr. 3, Seite 355-360
- [372] de Wit, C.; Thuresson, K. und Bjorklund, J. (2008): Tri- to decabrominated diphenyl ethers and HBCD in indoor air and dust from stockholm microenvironments *Organohalogen Compounds* (Band 70), Seite 846-849
- [373] Roosens, L.; Abdallah, M. A. E.; Harrad, S.; Neels, H. und Covaci, A. (2009): Exposure to Hexabromocyclododecanes (HBCDs) via Dust Ingestion, but Not Diet, Correlates with Concentrations in Human Serum: Preliminary Results, *Environmental Health Perspectives* (Band 117), Nr. 11, Seite 1707-1712
- [374] Abb, M.; Stahl, B. und Lorenz, W. (2011): Analysis of brominated flame retardants in house dust, *Chemosphere*, Nr. 85, Seite 1657-1663
- [375] Shoeib, M.; Harner, T.; Webster, G. M.; Sverko, E. und Cheng, Y. (2012): Legacy and current-use flame retardants in house dust from Vancouver, Canada, *Environmental Pollution* (Band 169), Seite 175-182
- [376] Bjorklund, J. A.; Thuresson, K.; Cousins, A. P.; Sellstrom, U.; Emenius, G. und de Wit, C. A. (2012): Indoor Air Is a Significant Source of Tri-decabrominated Diphenyl Ethers to Outdoor Air via Ventilation Systems, *Environmental Science & Technology* (Band 46), Nr. 11, Seite 5876-5884
- [377] Ali, N.; Dirtu, A. C.; Eede, N. V.; Goosey, E.; Harrad, S.; Neels, H.; 't Mannetje, A.; Coakley, J.; Douwes, J. und Covaci, A. (2012): Occurrence of alternative flame retardants in indoor dust from New Zealand: Indoor sources and human exposure assessment, *Chemosphere* (Band 88), Nr. 11, Seite 1276-1282
- [378] Harrad, S. und Abdallah, M. A. E. (2011): Brominated flame retardants in dust from UK cars - Within-vehicle spatial variability, evidence for degradation and exposure implications, *Chemosphere* (Band 82), Nr. 9, Seite 1240-1245
- [379] Meng, X. Z.; Duan, Y. P.; Yang, C.; Pan, Z. Y.; Wen, Z. H. und Chen, L. (2011): Occurrence, sources, and inventory of hexabromocyclododecanes (HBCDs) in soils from Chongming Island, the Yangtze River Delta (YRD), *Chemosphere* (Band 82), Nr. 5, Seite 725-731
- [380] Wu, J. P.; Guan, Y. T.; Zhang, Y.; Luo, X. J.; Zhi, H.; Chen, S. J. und Mai, B. X. (2010): Trophodynamics of Hexabromocyclododecanes and Several Other Non-PBDE Brominated Flame Retardants in a Freshwater Food Web, *Environmental Science & Technology* (Band 44), Nr. 14, Seite 5490-5495
- [381] Feng, A. H.; Chen, S. J.; Chen, M. Y.; He, M. J.; Luo, X. J. und Mai, B. X. (2012): Hexabromocyclododecane (HBCD) and tetrabromobisphenol A (TBBPA) in riverine and estuarine sediments of the Pearl

- River Delta in southern China, with emphasis on spatial variability in diastereoisomer- and enantiomer-specific distribution of HBCD, *Marine Pollution Bulletin* (Band 64), Nr. 5, Seite 919-925
- [382] Marvin, C. H.; Tomy, G. T.; Alae, M. und MacInnis, G. (2006): Distribution of hexabromocyclododecane in Detroit River suspended sediments, *Chemosphere* (Band 64), Nr. 2, Seite 268-275
- [383] Yang, R. Q.; Wei, H.; Guo, J. H. und Li, A. (2012): Emerging Brominated Flame Retardants in the Sediment of the Great Lakes, *Environmental Science & Technology* (Band 46), Nr. 6, Seite 3119-3126
- [384] Guerra, P.; Eljarrat, E. und Barcelo, D. (2010): Simultaneous determination of hexabromocyclododecane, tetrabromobisphenol A, and related compounds in sewage sludge and sediment samples from Ebro River basin (Spain), *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (Band 397), Nr. 7, Seite 2817-2824
- [385] Stavčlová, M.; Pulkrabová, J.; Hrádková, P.; Kalachová, K.; Zlámáliková, J.; Stiborová, H.; Poustka, J.; Kovář, M.; Macková, M.; Demnerová, K. und Hajšlová, J. (2009): PBDEs and HBCD in sewage sludge and river sediments in the Czech Republic: a 3-year survey (2006-2008), *Organohalogen Compounds* (Band 71), Seite 615-620
- [386] De Wit, C. A.; Nylund, K.; Eriksson, U.; Kierkegaard, A. und Asplund, L. (2007): Brominated flame retardants in sludge from 50 Swedish sewage treatment plants: Evidence of anaerobic degradation of HBCD and TBBP A, *Organohalogen Compounds* (Band 69), Seite 2686-2689
- [387] Zlamalikova, J.; Demnerova, K.; Mackova, M.; Hajslova, J.; Pulkrabova, J.; Hradkova, P.; Napravnikova, M.; Macek, T. und Stiborova, H. (2009): Plant uptake of hexabromocyclododecane (HBCD), *Febs Journal* (Band 276), Seite 296-296
- [388] Covaci, A.; Roosens, L.; Dirtu, A. C.; Waegeneers, N.; Van Overmeire, I.; Neels, H. und Goeyens, L. (2009): Brominated flame retardants in Belgian home-produced eggs: Levels and contamination sources, *Science of the Total Environment* (Band 407), Nr. 15, Seite 4387-4396
- [389] Zennegg, M.; Brändli, R. C.; Kupper, T.; Bucheli, T. D.; Gujer, E.; Schmid, P.; Stadelmann, F. X. und Tarradellas, J. (2005): PCDD/Fs, PCBs, PBDEs, TBBP A and HBCD in compost and digestate, *Organohalogen Compounds* (Band 67), Seite 1040-1043
- [390] Fernandes, A.; Dicks, P.; Mortimer, D.; Gem, M.; Smith, F.; Driffeld, M.; White, S. und Rose, M. (2008): Brominated and chlorinated dioxins, PCBs and brominated flame retardants in Scottish shellfish: Methodology, occurrence and human dietary exposure, *Molecular Nutrition & Food Research*
- [391] Ramu, K.; Kajiwara, N.; Isobe, T.; Takahashi, S.; Kim, E. Y.; Min, B. Y.; We, S. U. und Tanabe, S. (2007): Spatial distribution and accumulation of brominated flame retardants, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in blue mussels (*Mytilus edulis*) from coastal waters of Korea, *Environmental Pollution* (Band 148), Nr. 2, Seite 562-569
- [392] van Leeuwen, S. P. J. und de Boer, J. (2008): Brominated flame retardants in fish and shellfish - levels and contribution of fish consumption to dietary exposure of Dutch citizens to HBCD, *Molecular Nutrition & Food Research* (Band 52), Nr. 2, Seite 194-203
- [393] Bethune, C.; Nielsen, J.; Lundebye, A. K. und Julshamn, K. (2005): Current levels (2003-2004) of brominated flame retardants in feed and selected Norwegian seafood *Organohalogen Compounds* (Band 67), Seite 619-621
- [394] Hrádková, P.; Pulkrabová, J.; Kalachová, K.; Hloušková, V.; Tomaniová, M.; Poustka, J. und Hajšlová, J. (2012): Occurrence of Halogenated Contaminants in Fish from Selected River Localities and Ponds in the Czech Republic, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* (Band 62), Nr. 1, Seite 85-96
- [395] Roosens, L.; Cornelis, C.; D'Hollander, W.; Bervoets, L.; Reynders, H.; Van Campenhout, K.; Van Den Heuvel, R.; Neels, H. und Covaci, A. (2010): Exposure of the Flemish population to brominated flame retardants: Model and risk assessment, *Environment International* (Band 36), Nr. 4, Seite 368-376
- [396] Hu, X. Z.; Hu, D. C.; Song, Q.; Li, J. und Wang, P. (2011): Determinations of hexabromocyclododecane (HBCD) isomers in channel catfish, crayfish, hen eggs and fish feeds from China by isotopic dilution LC-MS/MS, *Chemosphere* (Band 82), Nr. 5, Seite 698-707
- [397] Eljarrat, E.; de la Cal, A.; Raldua, D.; Duran, C. und Barceló, D. (2005): Brominated flame retardants in *Alburnus alburnus* from Cinca River Basin (Spain), *Environmental Pollution* (Band 133), Nr. 3, Seite 501-508
- [398] Roosens, L.; Dirtu, A. C.; Goemans, G.; Belpaire, C.; Gheorghe, A.; Neels, H.; Blust, R. und Covaci, A. (2008): Brominated flame retardants and polychlorinated biphenyls in fish from the river Scheldt, Belgium, *Environment International* (Band 34), Nr. 7, Seite 976-983
- [399] Schmid, P.; Gujer, E.; Zennegg, M. und Lanfranchi, M. (2004): POPs and other persistent organic compounds in fish from remote alpine lakes in the Grisons, Switzerland *Organohalogen Compounds* (Band 66), Seite 1716-1719

-
- [400] Budakowski, W. und Tomy, G. (2003): Congener-specific analysis of hexabromocyclododecane by high-performance liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* (Band 17), Nr. 13, Seite 1399-1404
- [401] Takahashi, S.; Oshihoi, T.; Ramu, K.; Isobe, T.; Ohmori, K.; Kubodera, T. und Tanabe, S. (2010): Organohalogen compounds in deep-sea fishes from the western North Pacific, off-Tohoku, Japan: Contamination status and bioaccumulation profiles, *Marine Pollution Bulletin* (Band 60), Nr. 2, Seite 187-196
- [402] Shaw, S. D.; Berger, M. L.; Brenner, D.; Kannan, K.; Lohmann, N. und Papke, O. (2009): Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in the northwest Atlantic marine food web, *Science of the Total Environment* (Band 407), Nr. 10, Seite 3323-3329
- [403] Bytingsvik, J.; Gaustad, H.; Salmer, M.; Soermo, E.; Bæk, K.; Føreid, S.; Ruus, A.; Skaare, J. und Jenssen, B. (2004): Spatial and temporal trends of BFRs in Atlantic cod and Polar cod in the North-East Atlantic, *Organohalogen Compounds* (Band 66), Seite 3869-3873
- [404] Bustnes, J. O.; Lie, E.; Herzke, D.; Dempster, T.; Bjorn, P. A.; Nygard, T. und Uglem, I. (2010): Salmon Farms as a Source of Organohalogenated Contaminants in Wild Fish, *Environmental Science & Technology* (Band 44), Nr. 22, Seite 8736-8743
- [405] Ueno, D.; Alae, M.; Marvin, C.; Muir, D. C. G.; Macinnis, G.; Reiner, E.; Crozier, P.; Furdui, V. I.; Subramanian, A.; Fillmann, G.; Lam, P. K. S.; Zheng, G. J.; Muchtar, M.; Razak, H.; Prudente, M.; Chung, K. H. und Tanabe, S. (2006): Distribution and transportability of hexabromocyclododecane (HBCD) in the Asia-Pacific region using skipjack tuna as a bioindicator, *Environmental Pollution* (Band 144), Nr. 1, Seite 238-247
- [406] Ueno, D.; Alae, M.; Marvin, C.; Muir, D. C. G.; Macinnis, G.; Reiner, E.; Furdui, V. I.; Crozier, P.; Subramanian, A.; Fillmann, G.; Lam, P. K. S.; Zheng, G. J.; Muchtar, M. und Razak, H. (2005): Global monitoring of hexabromocyclododecane (HBCD) and other organochlorines using skipjack tuna *Organohalogen Compounds* (Band 67), Seite 1327-1329
- [407] Xia, C. H.; Lam, J. C. W.; Wu, X. G.; Sun, L. G.; Xie, Z. Q. und Lam, P. K. S. (2011): Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in marine fishes along the Chinese coastline, *Chemosphere* (Band 82), Nr. 11, Seite 1662-1668
- [408] Kajiwar, N.; Isobe, T.; Ramu, K. und Tanabe, S. (2006): Temporal trend studies on hexabromocyclododecane (HBCD) in marine mammals from Asia-Pacific, *Organohalogen Compounds* (Band 68), Seite 515-518
- [409] Isobe, T.; Ramu, K.; Kajiwar, N.; Takahashi, S.; Lam, P. K. S.; Jefferson, T. A.; Zhou, K. und Tanabe, S. (2007): Isomer specific determination of hexabromocyclododecanes (HBCDs) in small cetaceans from the South China Sea - Levels and temporal variation, *Marine Pollution Bulletin* (Band 54), Nr. 8, Seite 1139-1145
- [410] Pierce, G. J.; Santos, M. B.; Murphy, S.; Learmonth, J. A.; Zuur, A. F.; Rogan, E.; Bustamante, P.; Caurant, F.; Lahaye, V.; Ridoux, V.; Zegers, B. N.; Mets, A.; Addink, M.; Smeenk, C.; Jauniaux, T.; Law, R. J.; Dabin, W.; López, A.; Farré, J. M. A.; González, A. F.; Guerra, A.; García-Hartmann, M.; Reid, R. J.; Moffat, C. F.; Lockyer, C. und Boon, J. P. (2008): Bioaccumulation of persistent organic pollutants in female common dolphins (*Delphinus delphis*) and harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from western European seas: Geographical trends, causal factors and effects on reproduction and mortality, *Environmental Pollution* (Band 153), Nr. 2, Seite 401-415
- [411] Law, R. J.; Allchin, C. R.; Morris, S. und Jepson, P. D. (2003): Persistent organohalogen compounds in marine mammals stranded or bycaught in the UK, *Organohalogen Compounds* (Band 62), Seite 224-227
- [412] Isobe, T.; Oshihoi, T.; Hamada, H.; Nakayama, K.; Yamada, T. K.; Tajima, Y.; Amano, M. und Tanabe, S. (2011): Contamination status of POPs and BFRs and relationship with parasitic infection in finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) from Seto Inland Sea and Omura Bay, Japan, *Marine Pollution Bulletin* (Band 63), Nr. 5-12, Seite 564-571
- [413] Shaw, S. D.; Berger, M. L.; Weijs, L. und Covaci, A. (2012): Tissue-specific accumulation of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) including Deca-BDE and hexabromocyclododecanes (HBCDs) in harbor seals from the northwest Atlantic, *Environment International* (Band 44), Seite 1-6
- [414] Verreault, J.; Gabrielsen, G. W.; Letcher, R. J.; Muir, D. C. G. und Chu, S. (2004): New and established organohalogen contaminants and their metabolites in plasma and eggs of glaucous gull from Bear Island, SFT rapport prosjektnummer 6003089. The Norwegian Pollution Control Authority, Oslo, Norway, The Norwegian Pollution Control Authority, Seite 2-19
- [415] Miljeteig, C.; Strom, H.; Gavrilov, M. V.; Volkov, A.; Jenssen, B. M. und Gabrielsen, G. W. (2009): High Levels of Contaminants in Ivory Gull *Pagophila eburnea* Eggs from the Russian and Norwegian Arctic, *Environmental Science & Technology* (Band 43), Nr. 14, Seite 5521-5528

-
- [416] Nordlof, U.; Helander, B.; Bignert, A. und Asplund, L. (2010): Levels of brominated flame retardants and methoxylated polybrominated diphenyl ethers in eggs of white-tailed sea eagles breeding in different regions of Sweden, *Science of the Total Environment* (Band 409), Nr. 1, Seite 238-246
 - [417] Gauthier, L. T.; Hebert, C. E.; Weseloh, D. V. C. und Letcher, R. J. (2007): Current-use flame retardants in the eggs of herring gulls (*Larus argentatus*) from the Laurentian Great lakes, *Environmental Science & Technology* (Band 41), Nr. 13, Seite 4561-4567
 - [418] Jaspers, V.; Covaci, A.; Maervoet, J.; Dauwe, T.; Voorspoels, S.; Schepens, P. und Eens, M. (2005): Brominated flame retardants and organochlorine pollutants in eggs of little owls (*Athene noctua*) from Belgium, *Environmental Pollution* (Band 136), Nr. 1, Seite 81-88
 - [419] Lundstedt-Enkel, K.; Asplund, L.; Nylund, K.; Bignert, A.; Tysklind, M.; Olsson, M. und Orberg, J. (2006): Multivariate data analysis of organochlorines and brominated flame retardants in Baltic Sea guillemot (*Uria aalge*) egg and muscle, *Chemosphere* (Band 65), Nr. 9, Seite 1591-1599
 - [420] Johansson, A. K.; Sellstrom, U.; Lindberg, P.; Bignert, A. und de Wit, C. A. (2009): Polybrominated Diphenyl Ether Congener Patterns, Hexabromocyclododecane, and Brominated Biphenyl 153 in Eggs of Peregrine Falcons (*Falco peregrinus*) Breeding in Sweden, *Environmental Toxicology and Chemistry* (Band 28), Nr. 1, Seite 9-17
 - [421] Lindberg, P.; Sellstrom, U.; Haggberg, L. und de Wit, C. A. (2004): Higher brominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane found in eggs of peregrine falcons (*Falco peregrinus*) breeding in Sweden, *Environmental Science & Technology* (Band 38), Nr. 1, Seite 93-96
 - [422] de Boer, J.; Leslie, H.A.; Leonards, P.E.G.; Bersuder, P.; Morris, S. und Allchin, C.R. (2004): Screening and time trend study of decabromodiphenylether and hexabromocyclododecane in birds, Third International Workshop on Brominated Flame Retardants Seite 125–128, In: *Proceedings of the Third International Workshop on Brominated Flame Retardants*, Toronto, Canada
 - [423] Murvoll, K. M.; Skaare, J. U.; Jensen, H. und Jenssen, B. M. (2007): Associations between persistent organic pollutants and vitamin status in Brunnich's guillemot and common eider hatchlings, *Science of the Total Environment* (Band 381), Nr. 1-3, Seite 134-145
 - [424] Verreault, J.; Gebbink, W. A.; Gauthier, L. T.; Gabrielsen, G. W. und Letcher, R. J. (2007): Brominated flame retardants in glaucous gulls from the Norwegian Arctic: More than just an issue of polybrominated diphenyl ethers, *Environmental Science & Technology* (Band 41), Nr. 14, Seite 4925-4931
 - [425] Sormo, E. G.; Lie, E.; Ruus, A.; Gaustad, H.; Skaare, J. U. und Jenssen, B. M. (2011): Trophic level determines levels of brominated flame-retardants in coastal herring gulls, *Ecotoxicology and Environmental Safety* (Band 74), Nr. 7, Seite 2091-2098
 - [426] Venier, M. und Hites, R. A. (2011): Flame Retardants in the Serum of Pet Dogs and in Their Food, *Environmental Science & Technology* (Band 45), Nr. 10, Seite 4602-4608
 - [427] McKinney, M. A.; Stirling, I.; Lunn, N. J.; Peacock, E. und Letcher, R. J. (2010): The role of diet on long-term concentration and pattern trends of brominated and chlorinated contaminants in western Hudson Bay polar bears, 1991-2007, *Science of the Total Environment* (Band 408), Nr. 24, Seite 6210-6222
 - [428] McKinney, M. A.; Letcher, R. J.; Aars, J.; Born, E. W.; Branigan, M.; Dietz, R.; Evans, T. J.; Gabrielsen, G. W.; Peacock, E. und Sonne, C. (2011): Flame retardants and legacy contaminants in polar bears from Alaska, Canada, East Greenland and Svalbard, 2005-2008, *Environment International* (Band 37), Nr. 2, Seite 365-374
 - [429] Weiss, J.; Wallin, E.; Axmon, A.; Jönsson, B. A.; Akesson, H.; Janák, K.; Hagmar, L. und Bergman, Å. (2006): Hydroxy-PCBs, PBDEs, and HBCDDs in serum from an elderly population of Swedish fishermen's wives and associations with bone density, *Environmental Science & Technology* (Band 40), Nr. 20, Seite 6282-9
 - [430] Weiss, J.; Meijer, L.; Sauer, P.; Linderholm, L.; Athanassiadis, I. und Bergman, Å. (2004): PBDE and HBCDD levels in blood from Dutch mothers and infants - Analysis of a Dutch Groningen Infant Cohort, *Organohalogen Compounds* (Band 66), Seite 2647-2652
 - [431] Thomsen, C.; Frøshaug, M.; Leknes, H. und Becher, G. (2003): Brominated flame retardants in breast milk from Norway, *Organohalogen Compounds* (Band 64), Seite 33-36
 - [432] Darnerud, P. O.; Aune, M.; Larsson, L.; Lignell, S.; Mutshatshi, T.; Okonkwo, J.; Botha, B. und Agyei, N. (2011): Levels of brominated flame retardants and other persistent organic pollutants in breast milk samples from Limpopo province, South Africa, *Science of the Total Environment* (Band 409), Nr. 19, Seite 4048-4053
 - [433] Tue, N. M.; Sudaryanto, A.; Tu, B. M.; Isobe, T.; Takahashi, S.; Pham, H. V. und Tanabe, S. (2010): Accumulation of polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants in breast milk from women living in Vietnamese e-waste recycling sites, *Science of the Total Environment* (Band 408), Nr. 9, Seite 2155-2162

-
- [434] Schechter, A.; Haffner, D.; Colacino, J.; Patel, K.; Papke, O.; Opel, M. und Birnbaum, L. (2010): Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) and Hexabromocyclodecane (HBCD) in Composite US Food Samples, *Environmental Health Perspectives* (Band 118), Nr. 3, Seite 357-362
- [435] Goscinny, S.; Vandevijvere, S.; Maleki, M.; Van Overmeire, I.; Windal, I.; Hanot, V.; Blaude, M. N.; Vleminckx, C. und Van Loco, J. (2011): Dietary intake of hexabromocyclododecane diastereoisomers (alpha-, beta-, and gamma-HBCD) in the Belgian adult population, *Chemosphere* (Band 84), Nr. 3, Seite 279-288
- [436] Tornkvist, A.; Glynn, A.; Aune, M.; Darnerud, P. O. und Ankarberg, E. H. (2011): PCDD/F, PCB, PBDE, HBCD and chlorinated pesticides in a Swedish market basket from 2005-Levels and dietary intake estimations, *Chemosphere* (Band 83), Nr. 2, Seite 193-199
- [437] Kakimoto, K.; Nagayoshi, H.; Yoshida, J.; Akutsu, K.; Konishi, Y.; Toriba, A. und Hayakawa, K. (2012): Detection of Dechlorane Plus and brominated flame retardants in marketed fish in Japan, *Chemosphere*, <http://dx.dio.org/10.1016/j.chemosphere.2012.05.072> (im Druck)
- [438] Meng, X.-Z.; Xiang, N.; Duan, Y.-P.; Chen, L. und Zeng, E. Y. (2012): Hexabromocyclododecane in consumer fish from South China: Implications for human exposure via dietary intake, *Environmental toxicology and chemistry / SETAC* (Band 31), Nr. 7, Seite 1424-30
- [439] Tlustos, C.; McHugh, B.; Pratt, I.; Tyrrell, L. und McGovern, E. (2006): Investigation into levels of dioxins, furans, polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants in fishery produce in Ireland, *Marine Environment and Health Series* (Band 26), Seite 1-21
- [440] Zheng, X.-B.; Wu, J.-P.; Luo, X.-J.; Zeng, Y.-H.; She, Y.-Z. und Mai, B.-X. (2012): Halogenated flame retardants in home-produced eggs from an electronic waste recycling region in South China: Levels, composition profiles, and human dietary exposure assessment, *Environment international* (Band 45), Seite 122-8
- [441] Rawn, D. F. K.; Sadler, A.; Quade, S. C.; Sun, W. F.; Lau, B. P. Y.; Kosarac, I.; Hayward, S. und Ryan, J. J. (2011): Brominated flame retardants in Canadian chicken egg yolks, *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment* (Band 28), Nr. 6, Seite 807-815

7 Anhang

Inhaltsverzeichnis

Anhang A

Tabelle A1:	HBCD-Gehalte in Luft- und Staubproben.	165
Tabelle A2:	HBCD-Gehalte in Sedimentproben.	168
Tabelle A3:	HBCD-Gehalte in Boden, Wasser, Schlamm und sonstigen abiotischen Matrices.	171
Tabelle A4:	HBCD-Gehalte in Süßwasserlebewesen (in diversen Gewebearten).	173
Tabelle A5:	HBCD-Gehalte in marinen Meeresfrüchten (in diversen Gewebearten).	176
Tabelle A6:	HBCD-Gehalte in marinen Fischen (in diversen Gewebearten).	184
Tabelle A7:	HBCD-Gehalte in marinen Säugetieren (in diversen Gewebearten).	189
Tabelle A8:	HBCD-Gehalte in Vögeln (in Eiern und anderem Gewebe).	194
Tabelle A9:	HBCD-Gehalte in Land-Säugetieren (in diversen Gewebearten).	199
Tabelle A10:	HBCD-Gehalte in Pflanzen.	200
Tabelle A11:	HBCD-Gehalte in Humanproben.	201
Tabelle A12:	HBCD-Gehalte in Fleisch und Fleischerzeugnissen.	203
Tabelle A13:	HBCD-Gehalte in Fisch und Fischerzeugnissen.	204
Tabelle A14:	HBCD-Gehalte in sonstigen Lebensmitteln tierischen Ursprungs.	208
Tabelle A15:	HBCD-Gehalte in Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs.	210

Anhang B

Tabelle B1:	Kalibrierniveaus der nativen und $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD-Isomere (ng g^{-1}) zur Überprüfung der Linearität.	212
Tabelle B2:	Gehalte (ng g^{-1}) von nativen und $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD-Isomeren der Kalibrierlösungen zur Ermittlung des Arbeitsbereiches.	216
Tabelle B3:	$\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der entfetteten Silbermöweneiprüben der Inseln Trischen, Mellum und Heuwiese (bezogen auf die internationalen Vergleichsstandards VPDB bzw. AIR).	213
Tabelle B4:	$\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der entfetteten marinen Filetproben des Eikelfandsfjordes (bezogen auf die internationalen Vergleichsstandards VPDB bzw. AIR).	213
Tabelle B5:	Kristalldaten der von Smith <i>et al.</i> synthetisierten TBCD-Stereoisomere (nach [22]).	214

Anhang A

Tabelle A1: HBCD-Gehalte in Luft- und Staubproben.

Probennahmeort	Jahr	n ^b	Einheit	HBCD-Gehalt				Detektions- methode	Ref.
				Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Luft									
China (Guangzhou)	2006	a	pg m ⁻³	1,2-1,8				HPLC-MS/MS	[65]
China (Guangzhou)	a	64	pg m ⁻³	0,4-3,92				GC-MS	[49]
China (Peking)	2009	28	pg m ⁻³	57-470				HPLC-MS/MS	[371]
China (Shanghai)	2006	25	pg m ⁻³	22,5-71,9	8,98-19,8	3,10-9,40	8,59-38,7	HPLC-MS/MS	[345]
England (Außenluft)	2007	5	pg m ⁻³	34-40	2,3-3,7	0,9-1,2	31-35	HPLC-MS/MS	[152]
England (Büro)	2007	5	pg m ⁻³	70-460	18-87	14-34	43-370	HPLC-MS/MS	[152]
England (priv. Haushalt)	2007	5	pg m ⁻³	67-1.300	14-430	5-54	39-710	HPLC-MS/MS	[152]
England (Restaurants, Bars) ^c	2007	4	pg m ⁻³	820-960	180-400	19-46	360-690	HPLC-MS/MS	[152]
NW Finnland	2000/01	1	pg m ⁻³	2-3				GC-ECD	[113]
Japan (Hokkaido, Außenluft)	2006	a	pg m ⁻³	13-15				GC-MS	[151]
Schweden (Stockholm, u. a. Büros)	a	91	pg m ⁻³	n. d.				GC-MS	[372]
S Schweden	2000/01	1	pg m ⁻³	25-28				GC-ECD	[113]
Schweden (Stockholm)	2000	2	pg m ⁻³	76-610				GC-ECD	[113]
Schweden (Stockholm, Haus)	2006	10	pg m ⁻³	n. d.-33				GC-MS	[158]
Schweden (Stockholm, Apartment)	2006	44	pg m ⁻³	n. d.-15				GC-MS	[158]
Schweden (Stockholm, Büro)	2006	10	pg m ⁻³	n. d.				GC-MS	[158]
Schweden (Stockholm, Pflegestätte)	2006	10	pg m ⁻³	n. d.-35				GC-MS	[158]
Schweden (Stockholm, Auto)	2006	24	pg m ⁻³	n. d.				GC-MS	[158]
W Schweden	2000/01	1	pg m ⁻³	<1-5				GC-ECD	[113]
USA (Arkansas)	2002-04	10	pg m ⁻³	0,2-11				GC-MS	[48]
USA (Chicago)	2002/03	28	pg m ⁻³	0,9-9,6				GC-MS	[48]
USA (Indiana)	2002-04	33	pg m ⁻³	0,2-3,6				GC-MS	[48]
USA (Louisiana)	2002-04	10	pg m ⁻³	0,16-6,2				GC-MS	[48]
USA (Michigan)	2002-04	29	pg m ⁻³	0,2-8,0				GC-MS	[48]

Probennahmeort	Jahr	n ^b	Einheit	HBCD-Gehalt				Detektions- methode	Ref.
				Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Staub									
Belgien (Haus und Büro)	2003	23	ng g ⁻¹	<0,02-57.557				GC-MS	[161]
Belgien (Haus)	2007	16	ng g ⁻¹ dw	33-758	22-481	4-87	7-190	HPLC-MS/MS	[373]
Belgien (Büro)	2008	10	ng g ⁻¹ dw	256-1.153				HPLC-MS/MS	[157]
Belgien (Haus)	2008	43	ng g ⁻¹ dw	5-42.692				HPLC-MS/MS	[157]
Dänemark (Haus)	2002	10	ng g ⁻¹	1.000				GC-MS	[160]
Deutschland (Haus)	^a	24	ng g ⁻¹				30-15.000	HPLC-MS/MS	[374]
England (Auto)	2007	10	ng g ⁻¹	190-69.000	54-8.800	16-5.200	27-56.000	HPLC-MS/MS	[152]
England (Büro) ^c	2007	4	ng g ⁻¹	90-6.600	15-2.900	11-1.300	36-3.700	HPLC-MS/MS	[152]
England (Haus) ^c	2007	21	ng g ⁻¹	331-140.774	112-40.653	26-25.513	80-74.607	HPLC-MS/MS	[164]
England (Birmingham, Haus) ^c	2006	31	ng g ⁻¹	140-110.000	22-66.000	9-7.800	70-37.000	HPLC-MS/MS	[152]
England (Birmingham, Haus)	2007	37	ng g ⁻¹	50-111.000				HPLC-MS/MS	[162]
England (Birmingham) Büro ^c	2006	6	ng g ⁻¹	90-3.600	15-630	11-380	65-2.600	HPLC-MS/MS	[155]
England (Ostanglien, Haus)	2002	10	ng g ⁻¹	4.700				GC-MS	[160]
England (Haus)	2007	1	ng g ⁻¹	140-110.000	22-66.000	9-26.000	70-75.000	HPLC-MS/MS	[155]
England (Bars, Restaurants)	2007	1	ng g ⁻¹	2.300-3.200	810-1.200	270-420	1.100-1.700	HPLC-MS/MS	[152]
England (London, Haus)	2002	10	ng g ⁻¹	2.700				GC-MS	[160]
England (Schulen)	2007	43	ng g ⁻¹	72-89.000	24-10.000	14-6.700	34-72.000	HPLC-MS/MS	[166]
England (Schulen) ^c	2007-08	^a	ng g ⁻¹	72-89.000				HPLC-MS/MS	[163]
Finnland (Haus)	2002	10	ng g ⁻¹	790				GC-MS	[160]
Japan (Hokkaido, Haus)	2006	^a	pg m ⁻³	140-13.000				GC-MS	[151]
Japan (Osaka, Hotel)	2006	8	ng g ⁻¹	72-1.300				GC-MS	[73]
^a (Haus)	2007-08	15	ng g ⁻¹	170-19.000	44-6.100	15-2.100	110-11.000	HPLC-MS/MS	[58]
^a (Büro)	2007-08	10	ng g ⁻¹	1.500-12.000	630-3.500	160-1.300	380-7.100	HPLC-MS/MS	[58]
Kanada (Toronto, Haus)	2006	8	ng g ⁻¹	64-1.300	25-670	6-130	34-470	HPLC-MS/MS	[155]
Kanada (Vancouver, Haus)	2007/08	116	ng g ⁻¹	20-4.690				GC-MS	[375]
Rumänien (Haus)	2007	18	ng g ⁻¹ dw	190				GC-MS	[165]

Probennahmeort	Jahr	n ^b	Einheit	HBCD-Gehalt				Detektions- methode	Ref.
				Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Schottland (Haus)	2002	10	ng g ⁻¹	3.800				GC-MS	[160]
Skandinavien (EPS Fabrik)	^a	30	ng m ⁻³	200-150.000				GC-MS	[153]
Schweden (Stockholm, Haus)	2006	10	ng g ⁻¹	15-990				GC-MS	[158]
Schweden (Stockholm, Apartment)	2006	34	ng g ⁻¹	n. d.-2.400				GC-MS	[158]
Schweden (Stockholm, Büro)	2006	10	ng g ⁻¹	190-5.700				GC-MS	[158]
Schweden (Stockholm, Pflegestätte)	2006	10	ng g ⁻¹	190-1.600				GC-MS	[158]
Schweden (Stockholm, Auto)	2006	4	ng g ⁻¹	6,8-170				GC-MS	[158]
Schweden (Haus)	2008	19	ng g ⁻¹ dw	n. d.-95.000				GC-MS	[376]
USA (Haus) ^c	2006	20	ng g ⁻¹	n. d.-130.200				GC-MS	[156]
USA (Haus)	^a	17	ng g ⁻¹ dw	<3-925				GC-MS	[154]
USA (Austin, Haus)	2006	13	ng g ⁻¹	110-4.000	17-1.800	6-300	79-2.000	HPLC-MS/MS	[155]
Neuseeland	^a	50	ng g ⁻¹	20-4.100	3-1.790	3-270	8-3.020	HPLC-MS/MS	[377]
NO Großbritannien (Haus)	2002	10	ng g ⁻¹	940				GC-MS	[160]
NO Großbritannien (Haus)	2002	10	ng g ⁻¹	3.800				GC-MS	[160]
NW Großbritannien (Haus)	2002	10	ng g ⁻¹	1.400				GC-MS	[160]
O Großbritannien (Haus)	2002	10	ng g ⁻¹	1.000				GC-MS	[160]
SW Großbritannien (Haus)	2002	10	ng g ⁻¹	6.900				GC-MS	[160]
W Großbritannien (Auto)	2009	14	ng g ⁻¹	1.300-13.000 ^d	280-3.000 ^d	130-1.100 ^d	860-9.600 ^d	HPLC-MS/MS	[378]
W Großbritannien (Haus) ^c	2002	10	ng g ⁻¹	1.640				GC-MS	[160]
W Großbritannien (Schule)	2007-2008	43	ng g ⁻¹	72-89.000	24-10.000	14-6.700	34-72.000	GC-MS	[166]
Wales (Haus)	2002	10	ng g ⁻¹	4.700				GC-MS	[160]

^a keine Angabe; ^b Anzahl der unabhängigen Proben; ^c Probenahmepunkte liegen in unmittelbarer Umgebung; ^d Median

Tabelle A2: HBCD-Gehalte in Sedimentproben.

Probennahmeort	Jahr	n ^b	Einheit	HBCD-Gehalt				Detektions- methode	Ref.
				Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Flusssediment									
China	2006	7	ng g ⁻¹ dw	4,6-25	1,5-9,1	0,15-2,6	2,3-23	HPLC-MS/MS	[74]
China (Yangtze Flussdelta)	2009	22	ng g ⁻¹ dw	n. d.-0,0094	n. d.-0,0023	n. d.-0,0006	n. d.-0,0065	HPLC-MS/MS	[379]
S China	2006	6	ng g ⁻¹ dw	169 ± 12,1	61,4 ± 10,2	23,5 ± 1,07	84,3 ± 4,22	HPLC-MS/MS	[380]
China (Dongjiang)	2010	42	ng g ⁻¹ dw	0,07-31,6				HPLC-MS/MS	[381]
China (Zhujiang)	2010	19	ng g ⁻¹ dw	n. d.-9,37				HPLC-MS/MS	[381]
China (Beijiang)	2010	13	ng g ⁻¹ dw	0,09-1,89				HPLC-MS/MS	[381]
China (Pearl river)	2010	13	ng g ⁻¹ dw	n. d.-1,08				HPLC-MS/MS	[381]
Deutschland (Barby)	^a	^a	ng g ⁻¹ dw	17,80				GC-MS	[72]
Deutschland (Bimmen)	^a	^a	ng g ⁻¹ dw	7,31				GC-MS	[72]
Deutschland (Cumlosen)	^a	^a	ng g ⁻¹ dw	3,28				GC-MS	[72]
Deutschland (Dresden)	^a	^a	ng g ⁻¹ dw	0,99-9,93				GC-MS	[72]
Deutschland (Koblenz)	^a	^a	ng g ⁻¹ dw	19,79				GC-MS	[72]
Deutschland (Saarbrücken)	^a	^a	ng g ⁻¹ dw	8,11-16,14				GC-MS	[72]
Deutschland (Weil)	^a	^a	ng g ⁻¹ dw	2,76				GC-MS	[72]
England (Mersey)	2000	1	µg g ⁻¹ dw	27	<2,4	22	<2,4	HPLC-MS	[112]
England (Clyde)	2000	1	µg g ⁻¹ dw	187	64	31	92	HPLC-MS	[112]
England (Humber)	2000	1	µg g ⁻¹ dw	11	<2,4	<2,4	6	HPLC-MS	[112]
England (Skerne)	2000	2	µg g ⁻¹ dw	174-1.678	393	206	328	HPLC-MS	[112]
England (Tees)	2000	3	µg g ⁻¹ dw	295-511	75	57	258	HPLC-MS	[112]
England (Tyne)	2000	1	µg g ⁻¹ dw	332	32	16	274	HPLC-MS	[112]
Kanada (Detroit River)	2001	63	ng g ⁻¹	<0,075-3,65	<0,025-1,85	<0,025-0,28	<0,025-2,3	HPLC-MS/MS	[382]
Kanada (Große Seen)	2007	223	ng g ⁻¹ dw	0,04-3,1				GC-MS	[383]
Niederlande (Dutch)	2001	4	µg g ⁻¹ dw	<0,2-9,9	<0,2-2,8	<0,4-3,9	<0,2-9,9	HPLC-MS	[112]
Niederlande (Schelde)	2001	3	ng g ⁻¹ dw	14-30				GC-MS	[183]
Niederlande (Schelde-Mündung)	2000	4	µg g ⁻¹ dw	0,7-99	<0,2-2,6	<0,2-0,3	0,7-96	HPLC-MS	[112]

Probennahmeort	Jahr	n ^b	Einheit	HBCD-Gehalt				Detektions- methode	Ref.
				Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Niederlande (Schelde-Mündung)	2001	3	µg g ⁻¹ dw	38-950	<0,2-180	<0,1-60	31-710	HPLC-MS	[112]
NO Spanien (Cinca)	2002	3	ng g ⁻¹ dw	n. d.-513,6				GC-MS	[110]
NO Spanien (Ebro)	^a	4	ng g ⁻¹ dw	n. d.-2.660				HPLC-MS	[57]
NO Spanien (Ebro)	2008	7	ng g ⁻¹ dw		n. d.-1,7	n. d.	4,6-1849	HPLC-MS/MS	[384]
Spanien (Ebro)	2002-06	13	ng g ⁻¹ dw	n. d.-2.430				HPLC-MS/MS	[57]
SW Schweden (Viskan, Häggån)	1995	9	ng g ⁻¹ c	n. d.-7.600				GC-MS	[169]
Tschechische Republik	2006-08	13	ng g ⁻¹ dw	<0,8				GC-MS	[385]
USA (North Carolina)	2009	^a	ng g ⁻¹ c		351-16.400	641-35.300	11.200-338.000	HPLC-MS/MS	[171]
Seesediment									
Deutschland (Belau See)	^a	^a	ng g ⁻¹ dw	1,89				GC-MS	[72]
Deutschland (Blankenese)	^a	^a	ng g ⁻¹ dw	1,80				GC-MS	[72]
England (Chapman's Pond)	2008/09	^a	ng g ⁻¹ dw	1,7	0,20	0,15	1,4	HPLC-MS/MS	[63]
England (Crag Lough)	2008/09	^a	ng g ⁻¹ dw	1,2	0,16	0,13	0,93	HPLC-MS/MS	[63]
England (Edgbaston Pool)	2008/09	^a	ng g ⁻¹ dw	4,8	0,62	0,46	3,8	HPLC-MS/MS	[63]
England (Fleet Pond)	2008/09	^a	ng g ⁻¹ dw	2,3	0,26	0,21	1,8	HPLC-MS/MS	[63]
England (Holt Hal Lake)	2008/09	^a	ng g ⁻¹ dw	1,1	0,23	0,19	0,66	HPLC-MS/MS	[63]
England (Marton Mere)	2008/09	^a	ng g ⁻¹ dw	3,0	0,57	0,50	1,9	HPLC-MS/MS	[63]
England (Slapton Ley)	2008/09	^a	ng g ⁻¹ dw	4,0	0,48	0,39	3,1	HPLC-MS/MS	[63]
England (Thoresby Lake)	2008/09	^a	ng g ⁻¹ dw	0,9	0,11	0,064	0,73	HPLC-MS/MS	[63]
England (Wake Valley Pond)	2008/09	^a	ng g ⁻¹ dw	0,88	0,11	0,096	0,67	HPLC-MS/MS	[63]
Kanada (Winnipegsee)	2002	4	pg L ⁻¹		n. d.	n. d.	n. d.-0,1	HPLC-MS/MS	[64]
Norwegen (Bäreninsel)	2001	^a	ng g ⁻¹ dw	n. d.-3,88				HPLC-MS	[103]
Norwegen (Seen Mjøsa, Losna)	2003	14	ng g ⁻¹ dw		<0,3	<0,2-7,91	<0,4	HPLC-MS	[132]
Schweden	1997	2	ng g ⁻¹ dw	0,5-1,5				GC-ECD	[113]
Schweiz (Greifensee)	2003	^a	ng g ⁻¹ dw	0,4-2,50				GC-MS	[61]
Sediment marinen Ursprungs									
Barent See	2007	11	ng g ⁻¹ dw	n. d.-191	n. d.-17,2	n. d.-31,6	n. d.-158	HPLC-MS	[174]

Probennahmeort	Jahr	n ^b	Einheit	HBCD-Gehalt				Detektions- methode	Ref.
				Σ HBCD	(\pm)- α	(\pm)- β	(\pm)- γ		
Japan (Bucht von Tokyo)	2002	9	ng g ⁻¹ dw	0,11-2,1				HPLC-MS/MS	[173]
O Korea (Küstenregion)	2005	5	ng g ⁻¹ dw	1,2-16	0,19-3,3	0,08-1,9	0,93-11	HPLC-MS/MS	[176]
SW Korea (Küstenregion)	2005	20	ng g ⁻¹ dw	0,39-59	0,12-8,5	0,03-4,5	0,23-47	HPLC-MS/MS	[176]
S Nordsee	2000	10	ng g ⁻¹ dw	<0,2-6,9				GC-MS	[172]
NW Norwegen (Åsefjord)	2006/07	25	ng g ⁻¹ TOC	n. d.-18.000	n. d.-3.900	n. d.-2.400	n. d.-11.000	HPLC-MS	[175]
Schweden	1996	4	ng g ⁻¹ dw	0,2-0,9				GC-ECD	[113]
Sedimentablagerungen									
NW Finnland	2000/01	1	pg m ⁻³ Tag	5.100-13.000				GC-ECD	[113]
S Schweden	2000/01	1	pg m ⁻³ Tag	20-1.600				GC-ECD	[113]
Schweden (Stockholm)	2000	2	pg m ⁻³ Tag	5.500-366.000				GC-ECD	[113]

^a keine Angabe; ^b Anzahl der unabhängigen Proben; ^c bezogen auf den Glührückstand

Tabelle A3: HBCD-Gehalte in Boden, Wasser, Schlamm und sonstigen abiotischen Matrices.

Probennahmeort	Jahr	n ^b	Einheit	HBCD-Gehalt				Detektions- methode	Ref.
				Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Boden									
China	2007	7	ng g ⁻¹ dw	2,8-144,5				HPLC-MS/MS	[102]
China (Harbin)	2006	85	ng g ⁻¹ dw	n. d.-7,67				GC-MS	[167]
China (Umgebung von Guangzhou)	2006	3	ng g ⁻¹ dw	1,7-5,6				HPLC-MS/MS	[65]
S China	2005-08	4	ng g ⁻¹ dw	7,1-120	1,1-29	0,3-16	5,6-73	HPLC-MS/MS	[141]
S China (Recyclinghöfe)	2006/08	90	ng g ⁻¹ dw	0,38-284	0,19-61,5	0,04-12,7	0,15-215	HPLC-MS/MS	[168]
S China (Gebiet um Recyclinghöfe)	2006/08	90	ng g ⁻¹ dw	0,01-5,84	0,00-3,44	0,00-0,71	0,00-1,67	HPLC-MS/MS	[168]
S China (Industriegebiet)	2006/08	90	ng g ⁻¹ dw	0,03-29,9	0,01-1,68	0,00-1,01	0,01-27,2	HPLC-MS/MS	[168]
Europa	^a	10	ng g ⁻¹ dw	111-23.200				GC-MS	[50]
Europa	^a	10	ng g ⁻¹ dw	n. d.-20.600	n. d.-2.930	n. d.-1.520	n. d.-16.100	HPLC-MS	[50]
Wasser									
S China	2005-08	3	pg L ⁻¹	52	42	3	7	HPLC-MS/MS	[141]
S China	2006	6	ng L ⁻¹	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	n. d.	0,01 ± 0,00	HPLC-MS/MS	[380]
Europa	^a	5	µg L ⁻¹	9,1-20.300				GC-MS	[50]
Europa	^a	5	µg L ⁻¹	11,0-19.000	1,6-7.580	0,6-3.230	8,8-8.220	HPLC-MS	[50]
England (See Chapman's Pond)	2008/09	2	pg L ⁻¹	150 ± 32	57 ± 7,9	24 ± 6,8	68 ± 17	HPLC-MS/MS	[63]
England (See Crag Lohgh)	2008/09	2	pg L ⁻¹	110 ± 15	23 ± 7,4	13 ± 3,6	77 ± 4,7	HPLC-MS/MS	[63]
England (See Edgbaston Pool)	2008/09	2	pg L ⁻¹	270 ± 31	63 ± 10	31 ± 3,7	180 ± 17	HPLC-MS/MS	[63]
England (See Fleet Pond)	2008/09	2	pg L ⁻¹	120 ± 49	19 ± 7,9	10 ± 3,4	88 ± 38	HPLC-MS/MS	[63]
England (See Holt Hal Lake)	2008/09	2	pg L ⁻¹	120 ± 16	35 ± 5,0	23± 3,1	60 ± 8,1	HPLC-MS/MS	[63]
England (See Marton Mere)	2008/09	2	pg L ⁻¹	190 ± 21	51 ± 11	23 ± 4,8	119 ± 6,0	HPLC-MS/MS	[63]
England (See Slapton Ley)	2008/09	2	pg L ⁻¹	270 ± 18	38 ± 3,6	21 ± 4,3	210 ± 13	HPLC-MS/MS	[63]
England (See Thoresby Lake)	2008/09	2	pg L ⁻¹	80 ± 7,3	25 ± 2,0	11 ± 0,6	44 ± 5,4	HPLC-MS/MS	[63]
England (See Wake Valley Pond)	2008/09	2	pg L ⁻¹	100 ± 10	24 ± 2,6	14 ± 0,6	64 ± 7,7	HPLC-MS/MS	[63]
Kanada (Winnipegsee)	2002	54 L	ng g ⁻¹ dw		6,11-13,57	n. d.	n. d.-4,88	HPLC-MS/MS	[64]

Probennahmeort	Jahr	n ^b	Einheit	HBCD-Gehalt				Detektions- methode	Ref.	
				Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ			
Sonstige Matrices										
Abwasser	Niederlande	2002	10	µg g ⁻¹ dw	<1-3.800				HPLC-MS	[112]
Abwasser	SO England	2002	10	µg g ⁻¹ dw	<3,9-29,4				HPLC-MS	[112]
Klärschlamm	Irland	2002	6	µg g ⁻¹ dw	153-9.120				HPLC-MS	[112]
Klärschlamm	Niederlande	2002	8	µg g ⁻¹ dw	<0,6-1.300				HPLC-MS	[112]
Klärschlamm	Schweden	2000	50	ng g ⁻¹ dw	45				GC-MS	[386]
Klärschlamm	Schweiz	2003/05	16	ng g ⁻¹ dw	39-597				GC-ECD	[81]
Klärschlamm	SO England	2002	5	µg g ⁻¹ dw	531-2.983				HPLC-MS	[112]
Klärschlamm	NO Spanien	2008	7	ng g ⁻¹ dw		n. d.-175	n. d.-6,0	n. d.-375	HPLC-MS/MS	[384]
Klärschlamm	Spanien (Madrid)	2008	19	ng g ⁻¹	5,8-24,9	1,2-13,5	n. d.-3,2	3,4-14,4	HPLC-MS/MS	[133]
Klärschlamm	Tschechische Republik	^a	15	ng g ⁻¹ dw	n. d.-126,4				^a	[387]
Klärschlamm	Tschechische Republik	2006-08	15	ng g ⁻¹ dw	3,0-173,8				GC-MS	[385]
Dämmplatten	Japan	2008	^a	ng g ⁻¹	240-23.000.000				HPLC-MS/MS	[36]
Deponiesickerwasser	Niederlande	2002	11	µg g ⁻¹ dw	2,5-36.000				HPLC-MS	[112]
Deponiesickerwasser	Niederlande	2002	2	µg g ⁻¹ dw	113-36.000	7.000	<23	29.000	HPLC-MS	[112]
Fernseher	Japan	2008	2	ng g ⁻¹	n. d.-680				HPLC-MS/MS	[36]
Gardine	Japan	2008	2	ng g ⁻¹	130.000-180.000				HPLC-MS/MS	[36]
Hühner Fäces	Belgien (priv. Haushalt)	2006/07	20	ng g ⁻¹ dw	2,45-2,63				GC-MS	[388]
Kompost	Schweiz	^a	6	ng g ⁻¹ dw	19-170				GC-MS	[389]
Küchenabfall	Belgien (priv. Haushalt)	2006/07	30	ng g ⁻¹ dw	n. d.-1,67				GC-MS	[388]
Laptop	Japan	2008	1	ng g ⁻¹	n. d.-610				HPLC-MS/MS	[36]
Tapete	Japan	2008	^a	ng g ⁻¹	130-340				HPLC-MS/MS	[36]
Textilien (Polster)	Japan	^a	10	µg g ⁻¹	2,5-43.000	0,32-18.000	0,050-7.500	2,1-18.000	HPLC-MS/MS	[56]
Eukalyptusblätter	S China	2005-08	3	ng g ⁻¹ dw	60	14,2	13,7	32,1	HPLC-MS/MS	[141]

^a keine Angabe; ^b Anzahl der unabhängigen Proben

Tabelle A4: HBCD-Gehalte in marinen Meeresfrüchten (in diversen Gewebearten).

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Austern	<i>Crassostrea spp.</i>	Japan (Aichi)	a	a	lw	150	120	3,0	33	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Aomori)	a	a	lw	61	24	3,5	16	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Ehime)	a	a	lw	95	38	4,7	52	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Fukui)	a	a	lw	130	100	2,5	26	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Fukuoka)	a	a	lw	62	39	2,6	20	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Hiroshima)	a	a	lw	32-33	18	1,1-1,4	12-14	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Hokkaido)	a	a	lw	43	32	1,5	9,5	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Hyogo)	a	a	lw	140-530	50-320	5,8-19	88-190	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Iwate)	a	a	lw	55	31	1,7	23	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Kochi)	a	a	lw	200	99	5,4	97	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Kumamoto)	a	a	lw	16	10	0,77	5,1	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Miyagi)	a	a	lw	50	34	1,5	14	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Okinawa)	a	a	lw	12	7,5	1,2	3,6	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Osaka)	a	a	lw	5.000-5.200	2.200-3.000	130-210	2.100-2.500	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Shizuoka)	a	a	lw	62	12	0,85	49	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Tokyo)	a	a	lw	230	160	5,9	59	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Toyama)	a	a	lw	250	160	9,0	77	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Yamaguchi)	a	a	lw	33-49	18-22	0,92-1,6	14-26	HPLC-MS/MS	[177]
Austern	<i>C. gigas, Ostrea edulis</i>	Schottland (Shetlandinseln)	2006	a	ww	0,564				HPLC-MS/MS	[390]
		W Schottland	2006	a	ww	0,472-1,261				HPLC-MS/MS	[390]
Eismeergarnele	<i>Pandalus borealis</i>	Barent See	2007	5	ww	n. d.				HPLC-MS	[174]
Europäische Strandkrabbe	<i>Carcinus maenas</i>	Norwegen (Åsefjord)	2006/07	15	lw	n. d.-120	n. d.-16	n. d.-9,5	n. d.-98	HPLC-MS/MS	[323]
Garnelen (u.a. Eismeergarnele)	<i>Pandalus borealis</i> , <i>Hymenodora glacialis</i>	Kanada (Arktik)	2000/01	5	lw		0,91-2,60	n. d.	0,23-1,24	HPLC-MS/MS	[189]
Garnelen (u.a. Eismeergarnele)	<i>Palaemon spp.</i>	S Norwegen	2003/04	10-20	ww	<0,02-0,17				GC-MS	[70]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Gem. Einsiedlerkrebs (Bauchraum)	<i>Pagurus bernhardus</i>	Nordsee	1999	9	lw	<30				HPLC-MS	[112]
Grobgerippte Körbchenmuschel	<i>Corbicula fluminea</i>	USA (North Carolina)	2009	a	lw		n. d.-43.900	n. d.-109.000	n. d.-210.000	HPLC-MS/MS	[171]
Große Pilgermuschel (Ausziehmuskel)	<i>P. maximus</i>	O Schottland	2006	a	ww	0,050-0,170				HPLC-MS/MS	[390]
		W Schottland	2006	a	ww	0,030-0,220				HPLC-MS/MS	[390]
Große Pilgermuschel (Gonaden)	<i>P. maximus</i>	O Schottland	2006	a	ww	0,330-1,210				HPLC-MS/MS	[390]
		W Schottland	2006	a	ww	0,090-2,140				HPLC-MS/MS	[390]
Japanischer Flugkalmar	<i>Todarodes pacificus</i>	Gelbes Meer	2006	13	lw	18,5	16,7	0,2	1,6	HPLC-MS/MS	[100]
		Korea (West-Küste)	2006	14	lw	77,1	62,0	1,3	13,7	HPLC-MS/MS	[100]
Krabbe	<i>Brachyura spp.</i>	Norwegen (Åsefjord) ^c	2006/07	25	lw	n. d.-1.200	n. d.-240	n. d.-110	n. d.-900	HPLC-MS	[175]
Miesmuschel	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Japan (Hokkaido)	a	a	lw	59	39	4,3	16	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Hyogo)	a	a	lw	86	42	1,6	42	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Miyagi)	a	a	lw	53	30	1,3	22	HPLC-MS/MS	[177]
		Japan (Yamaguchi)	a	a	lw	120	52	3,6	62	HPLC-MS/MS	[177]
Miesmuschel	<i>Mytilus edulis</i>	Korea (Westküste)	2005	a	lw	18-52				HPLC-MS/MS	[391]
		Niederlande (O Schelde)	2003	16-25	ww	0,9				GC-MS	[392]
		Norwegen	2004	25	ww	<0,17-0,87				GC-MS	[393]
		Norwegen (Åsefjord) ^c	2006/07	25	lw	n. d.-1.800	n. d.-760	n. d.-140	n. d.-850	HPLC-MS	[175]
		O Wattenmeer	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS	[392]
		Schottland (Shetlandinseln)	2006	a	ww	0,297-0,516				HPLC-MS/MS	[390]
		USA/Florida (Ost-Küste)	2005	a	lw	n. d.-500				HPLC-MS/MS	[391]
		W Schottland	2006	a	ww	0,192-12,1				HPLC-MS/MS	[390]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Miesmuschel	<i>M. edulis</i>	W Wattenmeer	2003	16-25	ww	0,2				GC-MS	[392]
Muscheln (u. a. abgestutze Klaffmuschel)	<i>Mya truncate</i> , <i>Serripes groenlandica</i>	Kanada (Arktik)	2002	5	lw		n. d.-1,03	n. d.	<0,46-5,66	HPLC-MS/MS	[189]
Nordseegarnele	<i>Crangon crangon</i>	Niederlande (Rijnmond)	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS	[392]
		Niederlande (W Schelde)	2001	^a	lw		28-38		<2-18	HPLC-MS/MS	[138]
		Wattenmeer	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS	[392]
Schneckenspezies	<i>Elimia proxima</i>	USA (North Carolina)	2009	^a	lw		4.040-15.200	4.530-28.600	12.800-107.000	HPLC-MS/MS	[171]
Seestern	<i>Asterias rubens</i>	NO England	2001	1	lw	769	464	<218	306	HPLC-MS	[112]
Seestern (Verdauungstrakt)	<i>A. rubens</i>	Nordsee	1999	3	lw	<30-84				HPLC-MS	[112]
Wattwurm (gesamt)	<i>Arenicola marina</i>	Norwegen (Åsefjord) ^c	2006/07	15	lw	n. d.-210	n. d.-34	n. d.-10	n. d.-170	HPLC-MS/MS	[323]
		Norwegen (Åsefjord) ^c	2006/07	27	lw	n. d.-14.000	n. d.-3.100	n. d.-1.900	n. d.-9.000	HPLC-MS	[175]
		S Norwegen	2003/04	2	ww	<0,02				GC-MS	[70]
Wellhornschnecke	<i>Buccinum undatum</i>	Nordsee	1999	3	lw	29-47				HPLC-MS	[112]
Zooplankton	<i>Calanus spp.</i>	Kanada (Arktik)	2002	5	lw		n. d.-9,16	n. d.	0,13-2,66	HPLC-MS/MS	[189]
Zooplankton	<i>Calanus finmarchicus</i>	Norwegen (Foran, Atlantik)	^a	^a	lw	n. d.				GC-MS	[68]
Zooplankton	<i>Calanus spp.</i>	Norwegen (Oslofjord)	^a	^a	lw	4,01 ± 2,82				GC-MS	[68]
Zooplankton	<i>Calanus glacialis</i>	Norwegen (Spitzbergen)	^a	^a	lw	n. d.				GC-MS	[68]
Zooplankton	<i>Calanoid copepods</i>	S Norwegen	2003/04	3	ww	0,03-0,14				GC-MS	[70]

^a unbekannt; ^b Anzahl der Individuen bzw. der unabhängigen Proben; ^c Probenahmeorte liegen in unmittelbarer Nähe

Tabelle A5: HBCD-Gehalte in Süßwasserlebewesen (in diversen Gewebearten).

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Amerikanischer Seesaibling (gesamt)	<i>Salvelinus namaycush</i>	Kanada (Ontariosee)	1979, '83, '88, '93, '98, 2004	29	lw	16-33	15-27	0,16-0,94	1,4-6,5	HPLC-MS/MS	[88]
		USA (Ontariosee)	2002	5	ww		0,37-3,78		0,07-0,73	HPLC-MS/MS	[178]
Amerikanischer Zander (Filet)	<i>Stizostedion vitreum</i>	Kanada (Winnipegsee)	2000-02	5	lw		2,02-13,07	0,66-2,36	1,65-6,59	HPLC-MS/MS	[64]
Apfelschnecke	<i>Cipango-paludina chinensis</i>	S China	2006	43	lw	13,9 ± 2,61	7,73 ± 1,83	0,24 ± 0,24	5,90 ± 1,25	HPLC-MS/MS	[380]
Arktische Maräne (gesamt)	<i>Coregonus autumnalis</i>	Kanada (Mackenzie)	2004-05	9	lw	0,99 ± 1,40	0,03-3,78	0,01-2,43	0,01-11,15	HPLC-MS/MS	[343]
Bachforelle (Filet)	<i>Salmo trutta fario</i>	England (Skerne und Tees) ^d	2001	8	ww	<1,2-6,758				HPLC-MS	[179]
Barbe (Filet)	<i>Barbus barbus</i>	Tschech. Repub. ^d	2001-03	21	ww	1,18-15,55				GC-MS	[69]
Brasse (Filet)	<i>Abramis brama</i>	Tschech. Repub. ^d	2001-03	25	ww	n. d.-7,39				GC-MS	[69]
		Tschech. Repub.	2005	15	ww	0,8-158				GC-MS	[67]
		Tschech. Repub. (Odra/Ostrava)	2008	b	b	0,08-0,2				HPLC-MS/MS	[394]
		Tschech. Repub. (Elbe/Obristvi)	2008	b	b	0,09-0,3				HPLC-MS/MS	[394]
		Tschech. Repub. (Bilina)	2008	b	b	0,03-0,05				HPLC-MS/MS	[394]
		Tschech. Repub. (Elbe/Decin)	2008	b	b	0,07				HPLC-MS/MS	[394]
		Tschech. Repub. (Elbe/Obristvi)	2009	b	b	0,5-0,6				HPLC-MS/MS	[394]
		Tschech. Repub. (Usti nad Labem)	2009	b	b	0,2-1,7				HPLC-MS/MS	[394]
		Tschech. Repub. (Elbe/Decin)	2009	b	b	1,7-1,8				HPLC-MS/MS	[394]
		Deutschland (Belau See)	2007	15	lw	272-1318	48-265	30-145	182-902	HPLC-MS/MS	[181]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Brasse (Filet)	<i>A. brama</i>	Deutschland (Belau See)	2008	15	lw	106 ± 271	75 ± 184	403 ± 938	584 ± 1.388	HPLC-MS/MS	[181]
			2009	15	lw	9,7-13,2	6,8-8,2	n. d.	n. d.-3,5	HPLC-MS/MS	[181]
			2010	15	lw	52-115	20-28	6,4-13,2	26,74	HPLC-MS/MS	[181]
		Schweden (Götaälv)	2007	15	lw	40-48	32-38	n. d.	7,2-8,1	HPLC-MS/MS	[181]
			2008	15	lw	53-117	45-62	n. d.-9,2	5,3-46	HPLC-MS/MS	[181]
		Großbritannien (Mersy)	2007	11	lw	3.468-3.785	2.976-3.299	159-168	319-333	HPLC-MS/MS	[181]
			2008	15	lw	3.015-3.356	2.565-2.850	143-153	302-352	HPLC-MS/MS	[181]
		Frankreich (Rohne)	2007	15	lw	1.280-1.519	1.178-1.389	n. d.	91-165	HPLC-MS/MS	[181]
			2008	15	lw	1.030	929	9	93	HPLC-MS/MS	[181]
			2009	15	lw	531	463	6	62	HPLC-MS/MS	[181]
			2010	15	lw	199-212	176-188	n. d.	21	HPLC-MS/MS	[181]
		Großbritannien (Tees)	2007	15	lw	10.818-11.574	10.394- 11.053	136-145	288-377	HPLC-MS/MS	[181]
			2008	15	lw	9.482	9.205	110	167	HPLC-MS/MS	[181]
			2009	15	lw	14.496	14.164	127	205	HPLC-MS/MS	[181]
			2010	15	lw	11.157	10.992	63	102	HPLC-MS/MS	[181]
		Niederlande (Schelde)	2007	7	lw	92,1-94,3	63,7-66,1	4,5	21,5-26,1	HPLC-MS/MS	[181]
			2008	15	lw	70,3	64,3	n. d.	5,6	HPLC-MS/MS	[181]
			2009	15	lw	48,4-54,2	37,8-47,3	n. d.	5,8-9,0	HPLC-MS/MS	[181]
			2010	15	lw	35,7	31,1	n. d.	4,1	HPLC-MS/MS	[181]
Brassenart (Eier)	<i>Parabramis pkeinensis</i>	China (Yangtze)	2006	2	lw	11-52	8,1-29	0,32-3,1	2,0-20	HPLC-MS/MS	[139]
Brassenart (Filet)	<i>P. pkeinensis</i>	China (Yangtze)	2006	2	lw	14-130	10-74	0,46-6,7	2,7-51	HPLC-MS/MS	[139]
Chin. Wassertrug- natter	<i>Enhydryis chinensis</i>	S China	2006	2	lw	567 ± 364	494 ± 315	8,76 ± 6,22	64,0 ± 42,8	HPLC-MS/MS	[380]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Döbel (Filet)	<i>Leuciscus cephalus</i>	Tschech. Repub. ^d	2001-03	45	ww	1,34-4,08				GC-MS	[69]
		Tschech. Repub.	2005	45	ww	n. d.-14,0				GC-MS	[67]
			2008	b	b	0,09				HPLC-MS/MS	[394]
			2008	b	b	0,09-0,3				HPLC-MS/MS	[394]
Ebro Barbe (Filet)	<i>Barbus graellsii</i>	Spanien (Cinca) ^d	2002	23	ww	n. d.-750,4				GC-MS	[110]
Ebro Barbe (Leber)	<i>B. graellsii</i>	Spanien (Cinca) ^d	2002	23	ww	n. d.-624,8				GC-MS	[110]
Emnerald Shiner (Filet) ^e	<i>Notropis attherinoides</i>	Kanada (Winnipegsee)	2000-02	3	lw		4,51-6,53	n. d.-5,70	3,66-12,09	HPLC-MS/MS	[64]
Europ. Stinte (Filet)	<i>Osmerus eperlanus</i>	Norwegen ^d	2003	7-20	lw		2,1	0,03	0,25	HPLC-MS	[132]
Europ. Aal (Filet)	<i>Anguilla anguilla</i>	Belgien (Flandern) ^d	2000-06	429	lw	14-4.397				HPLC-MS/MS	[395]
		Belgien (Schelde)	2000	30	lw	<1-690				HPLC-MS	[112]
			2001	4	lw	29-266	25-200	<1,5-127	3,5-62	HPLC-MS	[112]
		Irland	2005	210	lw	7,4-166				GC-MS	[111]
		Niederlande (Akersloot)	2003	16-25	ww	0,7				GC-MS	[392]
		Niederlande (Deventer)	2003	16-25	ww	94				GC-MS	[392]
		Niederlande (Dutch)	1999	5	lw	25-359	25-292	<4,8	<1,8-67	HPLC-MS	[112]
		Niederlande (Haringvliet)	2003	16-25	ww	21-70				GC-MS	[392]
		Niederlande (Hollands-Diep)	2003	16-25	ww	150				GC-MS	[392]
		Niederlande (Ketel)	2003	16-25	ww	30				GC-MS	[392]
		Niederlande (Maas, Elisden)	2003	16-25	ww	15				GC-MS	[392]
		Niederlande (Maas, Keizersveer)	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS	[392]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD Gehalt in ng g ⁻¹			Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ	
Europ. Aal (Filet)	<i>A. anguilla</i>	Niederlande (Medemblik)	2003	16-25	ww	<3,4				GC-MS [392]
		Niederlande (Nieuwe Merwede)	2003	16-25	ww	230				GC-MS [392]
		Niederlande (Rjin, Lobith)	2003	16-25	ww	97				GC-MS [392]
		Niederlande (Roer, Vlodrop)	2003	16-25	ww	130				GC-MS [392]
		Niederlande (Suawoude)	2003	16-25	ww	2,5				GC-MS [392]
		Niederlande (Waal, Tiel)	2003	16-25	ww	210				GC-MS [392]
		England (Skerne und Tees) ^d	2001	8	ww	39,9-10.275				HPLC-MS [179]
		O Irland	2005	10	lw	15	6,0	0,18	0,20	HPLC-MS/MS [111]
		S Irland	2005	10	lw	15	8,9	0,48	0,58	HPLC-MS/MS [111]
		W Irland	2005	29	lw	1,2-2,2	n.a.	n.a.	n.a.	HPLC-MS/MS [111]
Europ. Hecht (Filet)	<i>Esox lucius</i>	NO Deutschland	2005	1	lw		649 ± 59/ 403 ± 35	44,3 ± 3,9/ 18,5 ± 1,6	20,1 ± 1,8 16,1 ± 1,5	HPLC-MS/MS [14] ^f
Fadenflossige Alsen (Filet)	<i>Dorosoma cepedianum</i>	O USA	1999-2002	5	lw	4,6-22	4,1-11	n. d.	0,5-12	HPLC-MS/MS [182]
			2006/07	7	lw	13-290	10-277	0,4-0,5	2,6-15	HPLC-MS/MS [182]
Felchen (Filet)	<i>Coregonus spp.</i>	Schweiz (Genfer See)	2001	2	lw	25				GC-MS [98]
			2001	1	lw		n. d.	n. d.	n. d.	HPLC-MS [98]
		Schweiz (See bei Neuenburg)	2001	2	lw	48				GC-MS [98]
			2001	1	lw		54	<3	<6	HPLC-MS [98]
		Schweiz (Seen) ^d	2001	7	lw	64-210				GC-MS [98]
			2001	3	lw		66-210	<15	<33	HPLC-MS [98]
Flohkrebs	<i>Diporeia hoyi</i>	USA (Ontariosee)	2002	>200	ww		0,05-0,06		0,02-0,03	HPLC-MS/MS [178]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Flussbarsch (Filet)	<i>Perna fluviatilis</i>	NO Deutschland	2005	5	lw		351 ± 31/ 306 ± 27	30,6 ± 2,7/ 30,1 ± 2,6	118 ± 10/ 97,7 ± 8,5	HPLC-MS/MS	[14] ^f
		England (Crag Lough)	2008	3	lw	70-93	28-65	6,3-9,9	12-30	HPLC-MS/MS	[63]
		England (Fleet Pond)	2008	3	lw	14-44	7,8-28	1,8-3,8	3,7-14	HPLC-MS/MS	[63]
		Norwegen	2003	7-20	lw		3,14-8,12	<0,1	<0,07-0,37	HPLC-MS	[132]
		Tschech.Repub. ^d	2001-03	27	ww	n. d.-1,59				GC-MS	[69]
		Tschech.Repub.	2005	20	ww	n. d.-16,1				GC-MS	[67]
Flusskrebs	<i>Macrobrachium nipponense</i>	S China	2006	7	lw	395 ± 94,5	267 ± 80,9	10,2 ± 2,74	118 ± 29,3	HPLC-MS/MS	[380]
		China	6	30	ww	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[396]
Forelle (Filet)	<i>Salmo trutta</i>	Tschech.Repub. ^d	2001-03	18	ww	n. d.				GC-MS	[69]
		Norwegen ^d	2003	7-20	lw		2,28-13,3	0,06-1,12	0,24-3,73	HPLC-MS	[132]
Forelle (gesamt)	<i>S. t. forma lacustris</i>	Schweiz	2004	9	lw	49-324				GC-ECD	[79]
Garnele	<i>Neomysis integer</i>	Belgien (Schelde) ^d	2001	b	lw	562-727				GC-MS	[183]
Gefleckter Tolstolob (Filet)	<i>Aristichthys nobilis</i>	China (Yangtze)	2006	3	lw	13-20	11-17	<0,3-0,63	1,7-2,7	HPLC-MS/MS	[139]
			2006	1	lw	24	20	0,69	2,8	HPLC-MS/MS	[139]
Getüpfte Gabelwels	<i>Ictalurus punctatus</i>	O USA	1999-2002	12	lw	4,2-20	3,7-13	n. d.-0,3	0,5-8,9	HPLC-MS/MS	[182]
			2006/07	16	lw	60-3.680	58-3.580	0,7-60	1,9-46	HPLC-MS/MS	[182]
Goldauge (Filet)	<i>Hiodon alosoides</i>	Kanada (Winnipegsee)	2000-02	3	lw		7,39-10,06	n. d.-2,08	3,23-6,95	HPLC-MS/MS	[64]
Goldfisch (Eier)	<i>Carassius auratus</i>	China (Yangtze)	2006	1	lw	24	12	1,8	10	HPLC-MS/MS	[139]
			2006	1	lw	16	12	0,37	2,9	HPLC-MS/MS	[139]
Goldfisch (gesamt)	<i>C. auratus</i>	China (Yangtze)	2006	1	lw	160	130	2,2	26	HPLC-MS/MS	[139]
Goldfisch	<i>C. auratus</i>	S China	2006	18	lw	129 ± 44,3	102 ± 32,8	5,42 ± 33,9	21,1 ± 8,83	HPLC-MS/MS	[380]
Graskarpfen (Filet)	<i>Ctenopharyngodon idella</i>	China (Yangtze)	2006	2	lw	12-68	7,2-54	<0,3-2,2	4,3-13	HPLC-MS/MS	[139]
			2006	1	lw	91	75	2,8	12	HPLC-MS/MS	[139]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Gr. Teichmuschel	<i>Anodonta cygnea</i>	NO Deutschland	2005	4	lw		140 ± 13; 81,81 ± 7,34	11,68 ± 1,05; 10,18 ± 0,88	22,42 ± 2,02; 19,93 ± 1,79	HPLC-MS/MS	[14] ^f
Gründling (Filet)	<i>Coreius heterodon</i>	China (Yangtze)	2006	2	lw	25-64	20,57	<0,3-1,7	5,2-5,6	HPLC-MS/MS	[139]
Hecht (Filet)	<i>Esox lucius</i>	Schweden (Viskan, Häggån) ^d	1995	5	lw	<50-8.000 ^a				GC-MS	[169]
		England (Marton Mere)	2008	2	lw	91-290	57-250	6,1-6,4	19-25	HPLC-MS/MS	[63]
		England (Thoresby Lake)	2008	2	lw	26-73	16-57	2,9-3,9	6,4-13	HPLC-MS/MS	[63]
		Norwegen	2003	7-20	lw		1,02-9,25	<0,05	0,03-0,92	HPLC-MS	[132]
		China	2006	5	lw	199-728	151-372	8,6-218	30-179	HPLC-MS/MS	[74]
Karausche	<i>Carassius carassius</i>	S China	2005-08	7	lw	21-378	35-284	0,4-25,5	2,2-67,8	HPLC-MS/MS	[141]
		England (Chapman's Pond)	2008	4	lw	66-290	43-230	3,1-18	11-42	HPLC-MS/MS	[63]
		England (Holt Hal Lake)	2008	4	lw	75-160	53-120	3,1-10	18-32	HPLC-MS/MS	[63]
		Tschech.Repub. (Odra/Ostrava)	2008	b	b	n. d.				HPLC-MS/MS	[394]
Karpfen (Filet)	<i>Cyprinus carpio</i>	O USA	1999-2002	9	lw	3,2-13	2,7-5,5	n. d.	0,5-7,7	HPLC-MS/MS	[182]
			2006/07	21	lw	54-4.640	38-4.270	1,6-71	14-300	HPLC-MS/MS	[182]
		China (Yangtze)	2006	1	lw	18	14	0,5	3,9	HPLC-MS/MS	[139]
			2006	1	lw	34	28	0,76	5,7	HPLC-MS/MS	[139]
		England (Chapman's Pond)	2008	1	lw	150	86	21	38	HPLC-MS/MS	[63]
		China (Yangtze)	2006	1	lw	30	27	0,51	2,9	HPLC-MS/MS	[139]
Karpfenart	<i>Cirrhinus molitorella</i>	S China	2006	12	lw	868 ± 280	649 ± 228	24,5 ± 9,48	195 ± 66,9	HPLC-MS/MS	[380]
Kaulkopf (gesamt)	<i>Cottus cognatus</i>	USA (Ontariosee)	2002	15	ww		0,15		0,02	HPLC-MS/MS	[178]
			2002	20	ww		0,38-0,39		0,1-0,14	HPLC-MS/MS	[178]
Kl. Maräne (Filet)	<i>Coregonus albula</i>	Norwegen	2003	7-20	lw		3,15	0,4	0,62	HPLC-MS	[132]
Löfflerwels (Filet)	<i>Pylodictus olivaris</i>	O USA	1999-2002	4	lw	7,2	6	n. d.	1,2	HPLC-MS/MS	[182]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Löfflerwels (Filet)	<i>Pylodictus olivaris</i>	O USA	2006/07	6	lw	698	667	17	14	HPLC-MS/MS	[182]
Maifisch (gesamt)	<i>Alosa pseudoharengus</i>	USA (Ontariosee)	2002	15	ww		0,08-0,15		0,01-0,02	HPLC-MS/MS	[178]
Mandarinfisch (Eier)	<i>Siniperca chuatsi</i>	China (Yangtze)	2006	1	lw	240	80	2,8	150	HPLC-MS/MS	[139]
Mandarinfisch (Filet)	<i>S. chuatsi</i>	China (Yangtze)	2006	1	lw	330	120	3,6	200	HPLC-MS/MS	[139]
Muscheln	<i>Lampsilis radiata</i>	Kanada (Winnipegsee)	2005	5	lw		6,15-10,09	n. d.-2,37	6,69-23,04	HPLC-MS/MS	[64]
Ostasiatischer Schlammpeitzger	<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	China	2006	3	lw	934-3.529	486-3.036	132-752	221-707	HPLC-MS/MS	[74]
Plankton	<i>Codepoda, Cladocera</i>	USA (Ontariosee)	2002	^b	ww		0,02-0,04		n. d.-0,03	HPLC-MS/MS	[178]
Quappe (Filet)	<i>Lote lota</i>	Kanada (Winnipegsee)	2000-02	5	lw		10,64-25,47	2,29-10,29	24,43-47,90	HPLC-MS/MS	[64]
Redhorse Sucker (Filet)	<i>Moxostoma sp.</i>	O USA	1999-2002	7	lw	n. d.-20	n. d.-7,6	n. d.	n. d.-12	HPLC-MS/MS	[182]
			2006/07	13	lw	16-1.400	14-1.340	n. d.-10	1,3-53	HPLC-MS/MS	[182]
Regenbogenforelle (Filet)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	England (Crag Lough)	2008	1	lw	180	110	22	43	HPLC-MS/MS	[63]
Rotaugen (Filet)	<i>Rutilus rutilus</i>	England (Fleet Pond)	2008	2	lw	83-200	47-160	4,6-14	15-22	HPLC-MS/MS	[63]
		England (Holt Hal Lake)	2008	1	lw	210	120	19	70	HPLC-MS/MS	[63]
		England (Slapton Ley)	2008	4	lw	25-210	22-120	2,2-30	9,2-94	HPLC-MS/MS	[63]
		Tschech.Repub. (Usti nad Labem)	2008	^b	^b	0,12				HPLC-MS/MS	[394]
		Tschech.Repub. (Elbe/Decin)	2008	^b	^b	0,03-0,05				HPLC-MS/MS	[394]
Rotaugen-/Rotfeder- Kreuzung (Filet)	<i>R. rutilus/ Scardinius erythrophthalmus</i>	England (Slapton Ley)	2008	1	lw	130	74	17	37	HPLC-MS/MS	[63]
Rotfeder (Filet)	<i>S. erythrophthalmus</i>	NO Deutschland	2005	7	lw		82,2 ± 7,3; 46,1 ± 4,1	5,69 ± 0,50; 2,94 ± 0,26	2,62 ± 0,23; 2,16 ± 0,19	HPLC-MS/MS	[14] ^f
Rotfeder (Filet)	<i>S. erythrophthalmus</i>	England (Slapton Ley)	2008	1	lw	95	37	17	37	HPLC-MS/MS	[63]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Schlängenkopf (Filet)	<i>Channa argus</i>	China (Yangtze)	2006	1	lw	37	37	<0,3	0,26	HPLC-MS/MS	[139]
Schlängenkopffisch	<i>Ophicephalus argus</i>	S China	2006	6	lw	187 ± 92,7	168 ± 82,4	3,12 ± 1,76	16,6 ± 9,06	HPLC-MS/MS	[380]
Schleie (Filet)	<i>Tinca tinca</i>	England (Fleet Pond)	2008	1	lw	41	34	2,4	4,1	HPLC-MS/MS	[63]
Schwebegarnele	<i>Mysis relicta</i>	USA (Ontariosee)	2002	>200	ww		0,04-0,07		0,01-0,02	HPLC-MS/MS	[178]
Silberkarpfen (Filet)	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	China (Yangtze)	2006	3	lw	23-38	15-29	<0,3-1,2	5,5-8,9	HPLC-MS/MS	[139]
Stint (gesamt)	<i>Osmerus mordax</i>	USA (Ontariosee)	2002	10	ww		0,25-0,26		0,04	HPLC-MS/MS	[178]
			2002	20	ww		0,19		0,03	HPLC-MS/MS	[178]
Ukelei (gesamt)	<i>Alburnus alburnus</i>	Spanien (Cinca)	2002	32	ww	n. d.-1643				GC-MS	[397]
Wels (Filet)	<i>Siluriformes sp.</i>	China	a	30	ww	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[396]
White Sucker (Filet) ^e	<i>Catostomus commersoni</i>	Kanada (Winnipegsee)	2000-02	5	lw		2,03-5,98	0,27-0,90	1,53-10,34	HPLC-MS/MS	[64]
Zander (Filet)	<i>Sander lucioperca</i>	Niederlande (Hollands-Diep)	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS	[392]
		Niederlande (Medemblik)	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS	[392]
Zooplankton	<i>Calanus spp.</i>	Kanada (Winnipegsee)	2002	5	lw		1,40-17,54	n. d.-1,80	0,22-1,82	HPLC-MS/MS	[64]
div. Arten		Belgien (Schelde)	2006	35	lw	390-12.100				GC-MS	[398]
div. Arten		Schweiz (Graubündner Seen)	2003	7	lw	<10-36				GC-MS	[399]
div. Arten		Spanien (Ebro)	2002-06	73	ww	n. d.-4.863				HPLC-MS/MS	[91]
div. Arten		Kanada (Winnipegsee)	b	>4	lw		^b (<γ-HBCD)	n. d.	0,15-1,11	HPLC-MS/MS	[400]

^a semiquantitativ; ^b keine Angabe; ^c Anzahl der Individuen bzw. der unabhängigen Proben; ^d Probenahmeorte liegen in unmittelbarer Nähe; ^e keine deutsche Übersetzung bekannt; ^f enantiomerenspezifische Daten

Tabelle A6: HBCD-Gehalte in marinen Fischen (in diversen Gewebearten).

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Aalmutter (gesamt) ^d	<i>Lycodes hubbsi</i>	Japan (Pazifik)	2005	2	lw	13				HPLC-MS/MS	[401]
Atlant. Hering (Filet)	<i>Clupea harengus</i>	Englischer Kanal	2003	16-25	ww	7,3				GC-MS	[392]
		Schweden (Bergöfjärden)	1999	10	lw	180				GC-ECD	[113]
		Nordsee (Zentral)	2003	16-25	ww	2,7				GC-MS	[392]
		Norwegen	2004	5	ww	<0,63-2,75				GC-MS	[393]
		Schweden (Ängskärsklubb)	1999	10	lw	58				GC-ECD	[113]
		Schweden (Landsort)	1999	10	lw	34				GC-ECD	[113]
		S Nordsee	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS	[392]
		Schottland (Shettlandinseln)	2003	16-25	ww	<1,2				GC-MS	[392]
		Schweden (Küste) ^c	2002	6	lw	1,5-31				GC-MS	[184]
		USA (Ostküste)	2006	20	lw	23				GC-MS	[402]
Atlant. Lachs (Filet)	<i>Salmo salar</i>	Norwegen	2004	9	ww	n. d.				GC-MS	[393]
Atlant. Nordkaper (Fett)	<i>Eubalaena glacialis</i>	USA/Kanada (Ostküste)	2004/05	5	lw	n. d.				GC-MS	[83]
Atlant. Scharfnasen- hai (Muskelfleisch)	<i>Rhizoprionodon terraenovae</i>	USA/Florida (Ostküste)	2004	3	lw	1,83-156	0,805-31,3	0,59-8,33	0,44-116	HPLC-MS/MS	[187]
Bullenhai (Muskelfleisch)	<i>Carcharhinus leucas</i>	USA/Florida (Ostküste)	1993/94	6	lw	9,15-413	1,52-23,5	0,85-20,9	5,1-368	HPLC-MS/MS	[187]
			2002-04	7	lw	16,6-310	4,88-33,1	1,75-9,74	<0,0036-367	HPLC-MS/MS	[187]
Dorsch (Filet)	<i>Gadus morhua</i>	Nordsee (Zentral)	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS	[392]
		S Nordsee	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS	[392]
		Norwegen (Etnesfjord)	2006	1	lw		11.140 ± 970; 10.110 ± 890	4.000 ± 350; 4.850 ± 420	118 ± 10; 99,0 ± 8,8	HPLC-MS/MS	[145] ^c
Dorsch (gesamt)	<i>G. morhua</i>	Norwegen (Foran, Atlantik)	^a	20	lw	18,7 ± 10,5				GC-MS	[68]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Dorsch (gesamt)	<i>G. morhua</i>	Norwegen (Oslofjord)	^a	20	lw	25,6 ± 13,4				GC-MS	[68]
		Nordsee	1999	2	lw	<0,7-50				HPLC-MS	[112]
		Norwegen (Oslofjord)	2003	14	lw	n. d.-51,2				GC-MS	[403]
			1998	11	lw	n. d.-22,67				GC-MS	[403]
			2003	16	lw	n. d.-56,9				GC-MS	[403]
		Norwegen (Atlantik-Küste)	2007	12	ww	0,02-20,9				GC-MS	[404]
Echter Bonito (Filet)	<i>Katsuwonus pelamis</i>	Brasilien	2000	4	lw	0,28	0,28	<0,03	<0,1	HPLC-MS/MS	[405]
		China	1997, 2001	11	lw	3,2-44	2,5-29	0,1-0,75	0,65-14	HPLC-MS/MS	[405]
		Golf von Bengalen	1998	5	lw	0,27	0,27	<0,1	<0,4	HPLC-MS/MS	[405]
		Indonesien	1999	2	lw	0,41	0,41	<0,1	<0,4	HPLC-MS/MS	[405]
		Japan	1997	15	lw	6,5-45	5,0-40	0,27-0,66	1,4-4,2	HPLC-MS/MS	[405]
		Nord-Pazifik	1997/98	15	ww	1,1-29	0,86-24	0,22-0,63	<0,5-4,2	HPLC-MS/MS	[405]
		Pazifik	1997-2001	^b	lw	<0,07-45				HPLC-MS/MS	[406]
		Phillipinen	1997	5	lw	0,86	0,86	<0,1	<0,4	HPLC-MS/MS	[405]
		Rep. Seychellen	1999	3	lw	n. d.	<0,1	<0,1	<0,4	HPLC-MS/MS	[405]
		Taiwan	1998	5	lw	27	24	0,38	2,3	HPLC-MS/MS	[405]
Europ. Aal (Filet)	<i>Anguilla anguilla</i>	Niederlande (W Schelde) ^c	2001	^a	lw		7-27		2-3	HPLC-MS/MS	[138]
Europ. Seehecht (Leber)	<i>Merluccius merluccius</i>	S Irland (Atlantik)	1999	1	lw	<0,6				HPLC-MS	[112]
Flachkopfflunder (gesamt)	<i>Hippoglossoides dubius</i>	Japan (Pazifik)	2005	2	lw	11-34				HPLC-MS/MS	[401]
Flunder (Filet)	<i>Platichthys flesus</i>	Niederlande (W Schelde)	2003	16-25	ww	0,9-1,3				GC-MS	[392]
		Norwegen (Etnesfjord)	2006	2	lw		245 ± 21; 165 ± 14	30,2 ± 2,6; 22,5 ± 2,0	101 ± 9; 116 ± 10	HPLC-MS/MS	[145] ^e

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Franzosendorsch (Filet)	<i>Trisopterus luscus</i>	Niederlande (W Schelde) ^c	2001	^a	lw		53-97		<3-43	HPLC-MS/MS	[138]
Franzosendorsch (Leber)	<i>T. luscus</i>	Niederlande (W Schelde) ^c	2001	^a	lw		73-150		5-10	HPLC-MS/MS	[138]
Gelber Umber	<i>Pseudosciaena crocea</i>	O China	2008	20	lw		0,62-8,0	n. d.	n. d.-0,88	HPLC-MS/MS	[407]
Grenadier (Leber und Filet)	<i>Coryphaenoides rupestris</i>	W Schottland	2006	18	lw	n. d.				GC-ECD	[76]
Grenadierart (gesamt) ^d	<i>Coelorinchus macrorchir</i>	Japan (Pazifik)	2005	2	lw	22-26				HPLC-MS/MS	[401]
Grenadierart (gesamt) ^d	<i>Coryphaenoides nasutus</i>	Japan (Pazifik)	2005	5	lw	5,4				HPLC-MS/MS	[401]
Gr. Strandschnecke	<i>Littorina littorea</i>	China	2006	100	lw	123-333	108-251	1,9-21	4,6-120	HPLC-MS/MS	[74]
Grubenaal (gesamt)	<i>Synaphobranchus kaupii</i>	Japan (Pazifik)	2005	3	lw	18-32				HPLC-MS/MS	[401]
Hering (Filet)	<i>Clupeidae spp.</i>	Dänemark (Skagen)	1999	10	lw	21				GC-ECD	[113]
		Schweden (Ostsee)	1999	10	lw	26				GC-ECD	[113]
			2000	4	lw	58				GC-ECD	[113]
Heringsfamilie (gesamt) ^c	<i>Alosa pseudoharengus</i>	USA (Ostküste)	2006	10	lw	7,6				GC-MS	[402]
Jap. Tiefseedorsch (gesamt)	<i>Laemonema longipes</i>	Japan (Pazifik)	2005	1	lw	22				HPLC-MS/MS	[401]
Kapelan (gesamt)	<i>Mallotus villosus</i>	Barent See	2007	125	ww	n. d.				HPLC-MS	[174]
Kaulkopfart (gesamt) ^d	<i>Dasycottus setiger</i>	Japan (Pazifik)	2005	1	lw	31				HPLC-MS/MS	[401]
Kliesche (Filet)	<i>Limanda limanda</i>	Nordsee ^c	2004	^a	lw	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[14] ^c
Laternenfisch (gesamt)	<i>Lampanyctus jordani</i>	Japan (Pazifik)	2005	14	lw	12				HPLC-MS/MS	[401]
Makrele (Filet)	<i>Scomber scombrus</i>	Norwegen	2004	25	ww	<0,89-1,19				GC-MS	[393]
		Nordsee	2003	16-25	ww	2,1				GC-MS	[392]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Makrele (Filet)	<i>S. scombrus</i>	Schottland (Shetlandinseln)	2003	16-25	ww	<0,5				GC-MS	[392]
		SW Irland	2003	16-25	ww	2,0				GC-MS	[392]
		Schottische Küste	2006	^a	lw		14,52 ± 1,41; 12,73 ± 1,23	2,08 ± 0,20; 2,66 ± 0,26	2,23 ± 0,22; 1,95 ± 0,19	HPLC-MS/MS	[14] ^c
		Norwegen (Etnesfjord)	2006	20	lw		98,35 ± 9,01; 85,79 ± 7,77	5,83 ± 0,55; 5,41 ± 0,50	11,53 ± 1,05; 12,02 ± 1,08	HPLC-MS/MS	[145] ^c
Makrele (gesamt)	<i>S. scombrus</i>	USA (Ostküste)	2006	10	lw	14				GC-MS	[402]
Medusenfisch (Fielet)	<i>Pampus argenteus</i>	O China	2008	26	lw		0,57-10,1	n. d.	n. d.-0,65	HPLC-MS/MS	[407]
Pazifischer Hering (gesamt)	<i>Clupea pallasii</i>	Kanada (Fluss Mackenzie)	2004/05	10	lw	1,06 ± 0,72	0,03-2,27	0,01-0,97	0,01-4,54	HPLC-MS/MS	[343]
Pazifischer Kabeljau (gesamt)	<i>Gadus macrocephalus</i>	Japan (Pazifik)	2005	2	lw	<0,05				HPLC-MS/MS	[401]
Polardorsch (gesamt)	<i>Boreogadus saida</i>	Kanada (Amundsen-Golf)	2004/05	10	lw	6,09 ± 4,74	0,03-12,33	0,01-4,96	0,01-26,56	HPLC-MS/MS	[343]
		Kanada (Arktik)	2000/01	8	lw		n. d.-1,38	n. d.	n. d.-0,07	HPLC-MS/MS	[189]
		Norwegen (Bäreninsel)	^a	6	lw	11,7 ± 7,2				GC-MS	[68]
		Norwegen (Spitzbergen)	2003	7	lw	1,38-2,87				GC-MS	[71]
Polardorsch (Leber)	<i>B. saida</i>	Norwegen (Bäreninsel)	2003	6	lw	7,67-23,4				GC-MS	[403]
Rotbarsch (gesamt)	<i>Sebastes mentella</i>	Kanada (Arktik)	2000/01	5	lw		<0,74-3,37	n. d.	<0,28-1,03	HPLC-MS/MS	[189]
Sandaal (gesamt)	<i>Ammodytes spp.</i>	S Norwegen	2003/04	4	ww	0,33-0,39				GC-MS	[70]
Sandgrundel (gesamt)	<i>Pomatoschistus spp.</i>	S Norwegen	2003/04	4-5	ww	0,19-0,40				GC-MS	[70]
Scheibenbauchart (gesamt) ^d	<i>Careproctus rastinus</i>	Japan (Pazifik)	2005	2	lw	45				HPLC-MS/MS	[401]
Schellfisch (Filet)	<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	N Nordsee	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS	[392]
		Nordsee (Zentral)	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS	[392]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹			Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ	
Schmarotzer- Stumpfnasenaal (gesamt)	<i>Simencheilus parasitica</i>	Japan (Pazifik)	2005	4	lw	24-110				HPLC-MS/MS [401]
Scholle (Filet)	<i>Pleuronectes platessa</i>	Niederlande (W Schelde) ^c	2001	^a	lw		38		<2	HPLC-MS/MS [138]
		Nordsee (Zentral)	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS [392]
		S Nordsee	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS [392]
Scholle (Leber)	<i>P. platessa</i>	Niederlande (W Schelde) ^c	2001	^a	lw		21-26		4-8	HPLC-MS/MS [138]
Schwarzbauch- Laternenhai (gesamt)	<i>Etmopterus lucifer</i>	Japan (Pazifik)	2005	3	lw	18				HPLC-MS/MS [401]
Schwarzer Degen- fisch (Leber, Filet)	<i>Aphanopus carbo</i>	W Schottland	2006	9	lw	n. d.				GC-ECD [76]
Schwarzer Dornhai (Leber, Filet)	<i>Etmopterus spinax</i>	W Schottland	2006	20	lw	n. d.				GC-ECD [76]
Schwarzgrundel (gesamt)	<i>Gobius niger</i>	S Norwegen	2003/04	10-20	ww	0,02-0,2				GC-MS [70]
Seelachs (Filet)	<i>Pollachius virens</i>	N Nordsee	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS [392]
		Nordsee (Zentral)	2003	16-25	ww	0,2				GC-MS [392]
Seelachs (Leber)	<i>P. virens</i>	Norwegen (Atlantik-Küste)	2007	9	ww	0,6-29,4				GC-MS [404]
Seelachs (Filet)	<i>P. pollachius</i>	Norwegen (Etnesfjord)	2006	1	lw		577,7 ± 51,15; 512,9 ± 44,30	80,01 ± 7,01; 70,47 ± 6,25	26,87 ± 2,37; 27,95 ± 2,46	HPLC-MS/MS [145] ^e
Seelachs (gesamt)	<i>P. virens</i>	S Norwegen	2003/04	4	ww	0,70-1,03				GC-MS [70]
Seezunge (Filet)	<i>Solea solea</i>	Niederlande (W Schelde) ^c	2001	^a	lw		110-1.100		6-11	HPLC-MS/MS [138]
		Nordsee (Zentral)	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS [392]
		S Nordsee	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS [392]
Seezunge (Leber)	<i>S. solea</i>	Niederlande (W Schelde)	2001	^a	lw		100-680		<1-8	HPLC-MS/MS [138]
Sternrochen (Filet)	<i>Amblyraja radiata</i>	Norwegen (Etnesfjord)	2006	1	lw		853,7 ± 74,46/ 622,8 ± 54,83	51,27 ± 4,49/ 35,27 ± 3,08	85,22 ± 7,62/ 68,23 ± 5,98	HPLC-MS/MS [145] ^e

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Winterflunder (gesamt)	<i>Pseudopleuronectes americanus</i>	USA (Cape Cod Bay)	2004	12	lw	<0,81-14,97				GC-MS	[83]
Wittling (Filet)	<i>Coregonus clupeaformis</i>	Kanada (Winnipeg See)	2000-02	5	lw		0,56-1,86	0,10-1,25	0,90-1,19	HPLC-MS/MS	[64]
Wittling (Filet)	<i>Merlangius merlangus</i>	Niederlande (W Schelde) ^c	2001	^a	lw		45-75		<3-51	HPLC-MS/MS	[138]
		Nordsee	1999	3	lw	<73				HPLC-MS	[112]
Wittling (gesamt)	<i>M. merlangus</i>	S Norwegen	2003/04	5	ww	0,69-1,52				GC-MS	[70]
Wittling (Leber)	<i>M. merlangus</i>	Niederlande (W Schelde) ^c	2001	^a	lw		16-240		<3-35	HPLC-MS/MS	[138]

^a unbekannt; ^b Anzahl der Individuen; ^c Probenahmeorte liegen in unmittelbarer Nähe; ^d keine deutsche Übersetzung bekannt; ^e enantiomerenspezifische Daten

Tabelle A7: HBCD-Gehalte in marinen Säugetieren (in diversen Gewebearten).

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Baird-Wal (Fett)	<i>Berardius bairdii</i>	Japan (Küste)	1999	^a	lw	25				GC-MS	[188]
Breitschnabeldelfin (Fett)	<i>Peponocephala electra</i>	Japan (Küste)	1982-2001	10	lw	2,7-460				HPLC-MS/MS	[408]
Chinesischer weißer Delfin (Fett)	<i>Sousa chinensis</i>	S Chinesisches Meer	1997-2001	7	lw	47-380	31-370	n. d.-0,59	n. d.-4,6	HPLC-MS/MS	[409]
Gemeiner Delfin (Fett)	<i>Delfinus delphis</i>	Frankreich (Küste)	2001-03	31	lw	433 ± 211				HPLC-MS	[410]
		Frankreich (Westküste)	^a	30	lw	98-899				GC-MS	[137]
		Irland (Küste)	2001-03	7	lw	1.086 ± 1.137				HPLC-MS	[410]
		Irland (Westküste)	2001-02	6	lw	193-3.416				GC-MS	[137]
		Spanien (Küste)	2001-03	23	lw	185 ± 101				HPLC-MS	[410]
		Spanien (NW-Küste)	^a	23	lw	52-454				GC-MS	[137]
		USA (NO Atlantik)	1993-2000	47	ww		14-283	n. d.	n. d.	HPLC-MS	[97]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Gestreifter Delfin (Fett)	<i>Stenella coeruleoalba</i>	Japan (Küste)	1999	3	lw	90				GC-MS	[188]
Gestreifter Delfin (gekochte Leber)	<i>S. coeruleoalba</i>	Japan (Küste)	1999	^a	lw	130				GC-MS	[188]
Gewöhnlicher Schweinswal (Fett)	<i>Phocoena phocoena</i>	England	1992-2003	85	lw	10,8-21.300				HPLC-MS	[186]
			2003-06	138	lw	n. d.-12.800				HPLC-MS	[186]
		England (Bucht von Liverpool)	2001-02	1	ww		<1	<1	<1	HPLC-MS	[411]
		England (Humber)	2001-02	3	ww		<1-298	<1-302	<1-317	HPLC-MS	[411]
		England (Tees)	2001-02	2	ww		53-315	1,2-2,1	<1-5,1	HPLC-MS	[411]
		England (Keltische See)	2001-02	1	ww		30	<1	<1	HPLC-MS	[411]
		England (Ost Kanal)	2001-02	1	ww		16	<1	<1	HPLC-MS	[411]
		Frankreich	2001-03	2	lw	1.533 ± 1.101				HPLC-MS	[410]
		Nordsee	^a	13	lw	538-2.312				GC-MS	[137]
		Irische See	2001-03	8	lw	499-8.765				GC-MS	[137]
		Irland	2001-03	7	lw	2.961 ± 2.716				HPLC-MS	[410]
		Irland (Südküste)	2001-03	3	lw	710-2.269				GC-MS	[137]
		Nordsee	1999	4	lw	440-6.800				HPLC-MS	[112]
			1999	5	lw	<5-1.019				HPLC-MS	[112]
			2001	5	lw	384-1.018	331-375	2,5-335	6,1-352	HPLC-MS	[112]
		O Großbritannien	1994	1	ww	64	64	>5	>5	HPLC-MS	[185]
			1998	1	ww	82	59	23	<5	HPLC-MS	[185]
			1999	1	ww	69	69	<5	<5	HPLC-MS	[185]
			2000	6	ww	39-262	39-233	<3-18	<4-13	HPLC-MS	[185]
			2002	2	ww	855-3.433	855-3.420	<5	<5-13	HPLC-MS	[185]
		S Nordsee	2003	10	ww	1.078-19.208	1.070-19.200	<5-54	<5-21	HPLC-MS	[185]
			2001-03	12	lw	1.080 ± 354				HPLC-MS	[410]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(\pm)- α	(\pm)- β	(\pm)- γ		
Gewöhnlicher Schweinswal (Fett)	<i>P. phocaena</i>	Schottland	1995	2	ww	10-42	10-34	<5-8	<5	HPLC-MS	[185]
			1996	4	ww	19-106	12-87	<5-9	<5-10	HPLC-MS	[185]
			1997	2	ww	75-434	64-434	<12	<5	HPLC-MS	[185]
			1998	5	ww	13-221	13-204	<5-7	<5-10	HPLC-MS	[185]
			1999	3	ww	216-468	209-458	<5-11	<5-9	HPLC-MS	[185]
			2000	1	ww	201	192	<5	9	HPLC-MS	[185]
			2001	10	ww	125-10.958	103-10.900	<5-37	<5-21	HPLC-MS	[185]
			2001-03	20	lw	2.236 \pm 2.562				HPLC-MS	[410]
			2002	12	ww	93-7.223	84-7.180	<5-37	<20	HPLC-MS	[185]
			2003	3	ww	453-17.411	453-17.400	<5-15	<5-9	HPLC-MS	[185]
		Schottland (NW Küste)	2001-03	5	lw	1.009-9.591				GC-MS	[137]
		Schottland (Ostküste)	2001-03	11	lw	393-2.593				GC-MS	[137]
		Spanien	2001-03	3	lw	121 \pm 37				HPLC-MS	[410]
		Spanien (NW-Küste)	^a	3	lw	79-143				GC-MS	[137]
		Großbritannien	1996	2	ww	103-125	103-125	>5	>5	HPLC-MS	[185]
			1999	1	ww	44	44	<5	<5	HPLC-MS	[185]
			2000	4	ww	42-240	42-227	<5-13	<5	HPLC-MS	[185]
			2001	5	ww	222-1.610	222-1.610	<4-24	<4-13	HPLC-MS	[185]
			2002	4	ww	1.089-17.609	1.060-17.600	8-12	<5-17	HPLC-MS	[185]
			2003	4	ww	132-9.186	132-9.170	<5-16	<5-12	HPLC-MS	[185]
Glattschweinswal (Fett)	<i>Neophocaena phocaenoides</i>	S Chinesisches Meer	1990	5	lw	4,7-37	4,4-15	n. d.-4,0	n. d.-21	HPLC-MS/MS	[409]
		S Chinesisches Meer	2000-01	7	lw	21-55	21-55	n. d.	n. d.-0,21	HPLC-MS/MS	[409]
			1990, 2001- 02	12	lw	4,7-55				HPLC-MS/MS	[408]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Glattschweinswal (Fett)	<i>N. phocaenoides</i>	S Japan	1999-2007	23	lw	8,8-2.700				HPLC-MS/MS	[412]
Gr. Tümmler (Fett)	<i>Tursiops truncatus</i>	USA/Florida (Ost-Küste)	2001-04	6	lw	0,72-9,11	0,20-3,86	0,083-1,8	0,10-4,43	HPLC-MS/MS	[187]
			1991-96	4	lw	0,54-6,19	0,33-3,69	0,12-0,80	0,086-1,7	HPLC-MS/MS	[187]
			2000/01	5	lw	0,46-72,6	0,12-35,4	0,023-11,8	<0,0036-25,3	HPLC-MS/MS	[187]
		Japan (Küste)	1999	^a	lw	260				GC-MS	[188]
Kalifornischer Seelöwe (Fett)	<i>Zalophus californianus</i>	USA (Kalifornien)	1993-2003	25	lw	0,19-96				HPLC-MS/MS	[87]
Mützenrobbe (Fett)	<i>Cystophora cristata</i>	USA (Massachusetts)	2004/05	3	lw	n. d.				GC-MS	[83]
Narwal (Fett)	<i>Monodon monoceros</i>	Kanada (Arktik)	2000/01	5	lw		2,05-6,10	n. d.	<0,11-1,27	HPLC-MS/MS	[189]
Nördlicher Seebär (Fett)	<i>Callorhinus ursinus</i>	Japan (Sanriku-Küste)	1972-98	35	lw	n. d.-67				HPLC-MS/MS	[408]
Ringelrobbe (Fett)	<i>Pusa hispida</i>	Kanada (Holmans Island)	2004	10	lw	0,66 ± 0,30	0,01-2,42	0,01-0,24	0,01-1,59	HPLC-MS/MS	[343]
		Norwegen (Spitzbergen)	2003	6	lw	14,6-34,5				GC-MS	[71]
		O Grönland	1986	5	lw		n. d.-4,15	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[221]
			1994	5	lw		1,99-4,42	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[221]
			1999	5	lw		3,17-7,98	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[221]
			2000	5	lw		3,03-17,9	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[221]
			2001	5	lw		4,31-11,2	n. d.-1,32	n. d.-4,07	HPLC-MS/MS	[221]
			2002	5	lw		4,55-10,7	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[221]
			2003	5	lw		4,07-7,69	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[221]
			2004	5	lw		4,02-9,01	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[221]
			2006	5	lw		5,60-9,92	n. d.	n. d.-1,87	HPLC-MS/MS	[221]
			2008	5	lw		8,49-12,4	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[221]
Sattelrobbe (Fett)	<i>Pagophilus groenlandicus</i>	USA (Massachusetts)	2004/05	6	lw	n. d.				GC-MS	[83]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probenahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(\pm)- α	(\pm)- β	(\pm)- γ		
Seehund (Bauchfett)	<i>Phoca vitulina</i>	Nordsee	1999	2	lw	63-2.055				HPLC-MS	[112]
		Norwegen (Foran, Atlantik)	^a	9	lw	22,3 \pm 11,9				GC-MS	[68]
		Norwegen (Oslofjord)	^a	5	lw	50,5 \pm 23,8				GC-MS	[68]
		Norwegen (Spitzbergen)	^a	5	lw	3,66 \pm 1,54				GC-MS	[68]
		USA (Ostküste)	2001-06	10	lw	2-29				GC-MS	[413]
Seehund (Fett)	<i>P. vitulina</i>	USA (Ostküste)	2000-07	5	lw	<30	4,2-27,4			HPLC-MS/MS	[235]
Seehund (Leber)	<i>P. vitulina</i>	USA (Ostküste)	2000-07	56	lw	n. d.-4.805				HPLC-MS/MS	[235]
			2001-06	55	lw	2-279				GC-MS	[413]
Walross (Fett)	<i>Odobenus rosmarus</i>	Kanada (Arktik)	2000/01	5	lw		n. d.-0,86	n. d.	<0,12-1,86	HPLC-MS/MS	[189]
Weißwal (Fett)	<i>Delfinapterus leucas</i>	Kanada	2007	10	lw	1,48 \pm 0,27	0,53-2,25	0,01-0,33	0,01-1,32	HPLC-MS/MS	[343]
Zwergwal (Fett)	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Japan (NW Pazifik)	1999	2	lw	57				GC-MS	[188]

^a keine Angabe; ^b Anzahl der Individuen

Tabelle A8: HBCD-Gehalte in Vögeln (in Eiern und anderem Gewebe).

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probennahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Gewebe:Ei											
Afrikanischer Schlangenhalsvogel	<i>Anbinga melanogaster rufa</i>	Südafrika	2004-05	14	lw	3				GC-MS	[192]
Beringmöwe	<i>Laurus glaucescens</i>	Kanada (Westküste)	2008	20	ww	5,4-9,0				GC-MS	[327]
Dickschnabellumme	<i>Uria lomvia</i>	Barent See	1993, 2002- 03, 2007	5	lw	1,5-3,23				HPLC-MS	[174]
Dreizehenmöwe	<i>Rissa tridactyla</i>	N Norwegen	1983,'93,2003	30	lw	30-142	30-142	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[321]
			1983,'93,2003	30	ww	1,7-17,3				GC-MS	[211]
Eiderente	<i>Somateria mollissima</i>	Norwegen (Åsefjord)	2006/07	39	lw	4-216	3-168	n. d.-10,1	n. d.-53	HPLC-MS/MS	[323]
		W Norwegen	2006/07	32	lw	15-140	13-120	0,5-3,0	1,4-10	HPLC-MS	[175]
Eismöwe	<i>Larus hyperboreus</i>	Norwegen (Bäreninsel)	2002-04	10	ww	2,0-70,0				GC-ECD	[414]
Eismöwe	<i>L.hyperboreus</i>	N Norwegen	1997, 2002	7	ww	2,3-12,0				GC-MS	[211]
Elfenbeinmöwe	<i>Pagophila eburnea</i>	Kanadische Arktis	1976,'87,2004	24	lw	2,1-3,8				GC-MS	[191]
Elfenbeinmöwe	<i>P. eburnea</i>	Norwegen (Spitz- bergen), NW Russland	2006/07	35	lw	38,1-136				GC-MS	[415]
Flussseeschwalbe	<i>Sterna hirundo</i>	Niederlande (Schelde)	2001	10	lw	330-7.100				HPLC-MS	[112]
Heiliger Ibis	<i>Threskiornis aethiopicus</i>	Südafrika	2004/05	2	lw	4,8-71				GC-MS	[192]
Kronenkiebitz	<i>Vanellus coronatus</i>	Südafrika	2004/05	1	lw	1,6				GC-MS	[192]
Mantelmöwe	<i>Larus marinus</i>	Norwegen (Åsefjord)	2006/07	26	lw	20-280	40-270	n. d.-0,5	n. d.-8,8	HPLC-MS/MS	[323]
Mantelmöwe	<i>L. marinus</i>	W Norwegen	2006/07	42	lw	90-190	90-180	0,4	1,0-5,0	HPLC-MS	[175]
Papageitaucher	<i>Fratercula arctica</i>	N Norwegen	1983,'93,2003	28	ww	1,9-10,1				GC-MS	[211]
Papageitaucher	<i>F. arctica</i>	N Norwegen	1983,'93,2003	29	lw	12-58	12-58	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[321]
Seeadler	<i>Haliaeetus albicilla</i>	S und N Schweden	1996-99	3	lw	320-3.100				HPLC-MS/MS ^a	[94]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probennahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Seeadler	<i>Haliaeetus albicilla</i>	N Schweden	1994-2005	12	lw	40-390				GC-MS	[416]
		S Schweden	1992-2004	32	lw	70-480				GC-MS	[416]
Silbermöwe	<i>Larus argentatus</i>	N Norwegen	1983,'93,2003	30	ww	1,4-11,6				GC-MS	[211]
		N Norwegen	1983,'93,2003	30	lw	16-108	16-108	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[321]
		USA (Große Seen)	2004	60-78	ww		< 0,01-20	n. d.	< 0,01-0,67	HPLC-MS/MS	[417]
		Kanada (Ostküste)	2008	40	ww	2,2-6,7				GC-MS	[327]
		Kanada (Große Seen)	2008	150	ww	2-12				GC-MS	[327]
		Belgien	1998-2000	40	lw	n. d.-50				GC-MS	[418]
Trottellumme	<i>Uria aalge</i>	Ostsee	1969-2001	10	lw	34-170				GC-MS	[190]
		SO Schweden	1986-1999	1-10	lw	70-220				HPLC-MS/MS ^a	[94]
		Ostsee	2000-02	30	lw	138				GC-MS	[419]
Waldkauz	<i>Strix aluco</i>	Zentr. Norwegen	1986-89	139	lw	6,35				GC-ECD	[66]
			2001-04	12	lw	2,07				GC-ECD	[66]
Wanderfalke	<i>Falco peregrinus</i>	Kanada	2003-07	12	lw	230-15.000	170-15.000	n. d.	1,9-39	HPLC-MS/MS	[193]
		N und S Schweden	1987-1999	44	lw	n. d.-270				GC-MS	[420]
		S Schweden	1992-99	7	lw	79-2.400				GC-MS ^a	[421]
		N Schweden	1991-99	8	lw	34-590				GC-MS ^a	[421]
		S und N Schweden	1996, 1999	4	lw	160-1.600				HPLC-MS/MS ^a	[94]
		Spanien	2003-07	13	lw	0,9-1.600	47-1.600	n. d.	0,9-11	HPLC-MS/MS	[193]
		Großbritannien	1973-2002	51	lw	n. d.-1.200				HPLC-MS	[422]
		S Grönland	1986-2003	33	lw	n. d.-270				GC-MS	[212]
		Großbritannien	1973-2001	58	lw		n. d.-644	n. d.-1.150	n. d.-173	HPLC-MS/MS	[322]
		Schweden	1974	1	lw	24				GC-MS	[220]
			1975	1	lw	n. d.				GC-MS	[220]
			1976	1	lw	n. d.				GC-MS	[220]
			1977	2	lw	n. d.				GC-MS	[220]
			1978	2	lw	n. d.				GC-MS	[220]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probennahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Wanderfalke	<i>F. peregrinus</i>	Schweden	1980	2	lw	n. d.				GC-MS	[220]
			1981	2	lw	n. d.				GC-MS	[220]
			1982	1	lw	n. d.				GC-MS	[220]
			1983	2	lw	n. d.-44				GC-MS	[220]
			1985	2	lw	19-54				GC-MS	[220]
			1986	2	lw	78				GC-MS	[220]
			1992	3	lw	94-370				GC-MS	[220]
			1993	6	lw	28-360				GC-MS	[220]
			1994	2	lw	n. d.-74				GC-MS	[220]
			1995	3	lw	45-420				GC-MS	[220]
			1996	6	lw	45-2200				GC-MS	[220]
			1997	5	lw	27-210				GC-MS	[220]
			1998	4	lw	14-260				GC-MS	[220]
			1999	10	lw	53-360				GC-MS	[220]
			2000	11	lw	140-300				GC-MS	[220]
			2001	10	lw	170-230				GC-MS	[220]
			2002	11	lw	260-350				GC-MS	[220]
			2003	15	lw	350-380				GC-MS	[220]
			2004	10	lw	110-340				GC-MS	[220]
			2005	5	lw	270				GC-MS	[220]
			2006	10	lw	28-1200				GC-MS	[220]
			2007	6	lw	160				GC-MS	[220]
Spezies (Gewebart)											
Bacchusreiherr (Muskelfleisch)	<i>Ardeola bacchus</i>	S China	2005-2008	5	lw	460-5.058	420-5.058	n. d.-8,7	n. d.-64	HPLC-MS/MS	[141]
Bekassine (Muskelfleisch)	<i>Gallinago gallinago</i>	S China	2005-2008	8	lw	n. d.-344	n. d.-169	n. d.-27,1	n. d.-27,1	HPLC-MS/MS	[141]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probennahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Dickschnabellumme (Dottersack)	<i>Uria lomvia</i>	Norwegen (Spitzbergen)	2002	9	lw	35,4 ± 15,7				GC-ECD	[423]
Dreizehenmöwe (Dottersack)	<i>Rissa tridactyla</i>	Zentr. Norwegen	2002	19	lw	260 ± 204				GC-MS	[319]
		Norwegen (Spitzbergen)	2002	18	lw	118 ± 57,4				GC-MS	[319]
Eiderente (Dottersack)	<i>Somateria mollissima</i>	Norwegen (Spitzbergen)	2002	1	lw	6,23				GC-ECD	[423]
Eismöwe (Plasma)	<i>Larus hyperboreus</i>	Norwegen (Bäreninsel)	2002-04	20	ww	0,1-2,0				GC-ECD	[414]
		Norwegen (Bäreninsel)	2004	12-15	ww	0,07-1,24				GC-MS	[120]
		Norwegen (Bäreninsel)	2006	19/30	lw	1,73 ± 0,37/ 2,07 ± 0,36				GC-MS	[424]
Eismöwe (Eigelb)	<i>L. hyperboreus</i>	Norwegen (Bäreninsel)	2006	31	lw	19,8 ± 2,2				GC-MS	[424]
Eismöwe (Leber)	<i>L. hyperboreus</i>	Norwegen (Spitzbergen)	2001	20	ww	<0,02-0,2				GC-MS	[123]
Eissturmvogel (Leber)	<i>Fulmarus glacialis</i>	Norwegen (Bäreninsel)	^b	14	lw	3,8-61,6				HPLC-MS	[104]
Frankoline (Muskelfleisch)	<i>Francolinus pintadeanus</i>	S China	2005-2008	3	lw	30,5-99,7	10-25,6	n. d.-4,7	20,2-75,2	HPLC-MS/MS	[141]
Gallirallus (Muskelfleisch)	<i>Gallirallus striatus</i>	S China	2005-2008	4	lw	n. d.-216	n. d.-42,5	n. d.	n. d.-216	HPLC-MS/MS	[141]
Haushuhn (Dottersack)	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Kanada (Brit. Kolumbien)	2005/06	≤10	lw	n. d.-1,59	n. d.-1,52	n. d.-0,112	n. d.-1,23	HPLC-MS/MS	[205]
		Kanada (Québec)	2005/06	≤10	lw	n. d.-28,4	n. d.-1,60	n. d.	n. d.-28,1	HPLC-MS/MS	[205]
		O Kanada (Seeprovinzen)	2005/06	≤10	lw	n. d.-1.110	n. d.-1.060	n. d.-34,8	n. d.-15,8	HPLC-MS/MS	[205]
Kormoran (Leber)	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Wales	1999	1	lw	1.319	1.060	147	112	HPLC-MS	[112]
		England	2000	1	lw	1.086	1.022	23	41	HPLC-MS	[112]
Krähenscharbe (Dottersack)	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Zentral-Norwegen	2002	30	lw	417 ± 208				GC-MS	[320]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probennahmeort	Jahr	n ^c	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Perlhalsstaune (Muskelfleisch)	<i>Streptopelia chinensis</i>	S China	2005-2008	9	lw	19-492	n. d.-243	n. d.-19,1	16,6-229	HPLC-MS/MS	[141]
Silbermöwe (Leber)	<i>Larus argentatus</i>	SO Norwegen	1998	16	lw	9,5-698				GC-MS	[425]
Sperber (Muskelfleisch)	<i>Accipiter nisus</i>	Großbritannien	1973-2002	65	lw	n. d.-19.000				HPLC-MS	[422]
		Großbritannien	1975-2002	69	lw		n. d.-2.360	n. d.-922	n. d.-1.440	HPLC-MS/MS	[322]
Trottellumme (Muskelfleisch)	<i>Uria aalge</i>	Ostsee	2000	20	lw	64,7				GC-MS	[419]
Wanderfalken (Plasma)	<i>Falco peregrinus</i>	Kanada (Große Seen)	2004-05	34	ww	0,0-0,03				GC-MS	[84]
Weissbrust-Kielralle (Muskelfleisch)	<i>Amaurornis phoenicurus</i>	S China	2005-2008	11	lw	n. d.-394	n. d.-66,6	n. d.-22,9	n. d.-305	HPLC-MS/MS	[141]
Weißkopfseeadler (Plasma)	<i>Haliaeetus leucocephalus</i>	NW USA	2001, 2003	29	ww	<0,01				GC-MS	[86]

^a semiquantitativ; ^b keine Angabe; ^c Anzahl der Individuen

Tabelle A9: HBCD-Gehalte in Land-Säugetieren (in diversen Gewebearten).

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probennahmeort	Jahr	n ^a	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Hund (Serum)	^b		^b	18	ww	n. d.-0,18				GC-MS	[426]
Marderhund (Fett)	<i>Nyctereutes procyonoides</i>	Japan (Osaka)	2001-03	8	lw	0,21-4,3	0,2-4,1	<0,005-0,14	<0,005-0,17	HPLC-MS/MS	[194]
Marderhund (Leber)	<i>N. procyonoides</i>	Japan (Ehime)	2001-03	21	lw	<0,005-29	<0,005-7,6	<0,005-3,7	<0,005-20	HPLC-MS/MS	[194]
		Japan (Kanagawa)	2001-03	10	lw	<0,005-10	<0,005-10	n. d.	<0,005-0,044	HPLC-MS/MS	[194]
		Japan (Osaka)	2001-03	8	lw	0,73-2,9	0,51-1,2	<0,005-0,71	0,029-1,0	HPLC-MS/MS	[194]
Polarbär (Blut)	<i>Ursus maritimus</i>	O Grönland	1999-2001	20	ww	n. d.				GC-MS	[122]
Polarbär (Fett)	<i>U. maritimus</i>	Bering- und Tschuktschensee	1999-2002	8	lw	<0,01-35,1				GC-MS	[85]
		Norwegen (Spitzbergen)	1999-2002	15	lw	18,2-109				GC-MS	[85]
		Norwegen (Spitzbergen)	2002/03	5	lw	5,31-16,51				GC-MS	[71]
		O Grönland	1999-2001	20	ww	n. d.-41				GC-MS	[122]
Polarbär (Gehirn)	<i>U. maritimus</i>	O Grönland	1999-2001	20	ww	n. d.				GC-MS	[122]
Polarbär (Leber)	<i>U. maritimus</i>	O Grönland	1999-2001	20	ww	n. d.				GC-MS	[122]
Polarbär (Plasma)	<i>U. maritimus</i>	Norwegen (Spitzbergen)	2004	15	ww	<0,03-0,85				GC-MS	[120]
Polarbär (Fett)	<i>U. maritimus</i>	Norwegen (Spitzbergen)	1991	14	lw	<0,3				GC-MS	[427]
			1992	15	lw	<0,3-4,0				GC-MS	[427]
			1994	15	lw	<0,3-15,4				GC-MS	[427]
			1995	15	lw	<0,3				GC-MS	[427]
			2001	9	lw	<0,3-6,8				GC-MS	[427]
			2003	12	lw	6,1-287				GC-MS	[427]
			2007	12	lw	1,3-20,4				GC-MS	[427]
		USA (Alaska)	2005-08	12	lw	n. d.				GC-MS	[428]
		Kanada, USA (Beaufortsee)	2005-08	46	lw	0,9-2,4				GC-MS	[428]

Spezies (Gewebe)	Lat. Name	Probennahmeort	Jahr	n ^a	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Polarbär (Fett)	<i>U. maritimus</i>	Kanada (Golf von Boothia)	2005-08	7	lw	n. d.				GC-MS	[428]
		Kanada (Lancaster Sound)	2005-08	13	lw	0,5-1,3				GC-MS	[428]
		Kanada (Baffin Bucht)	2005-08	14	lw	1,0-2,4				GC-MS	[428]
		Kanada (Davisstraße)	2005-08	9	lw	1,3-5,8				GC-MS	[428]
		Kanada (Hudson Bucht)	2005-08	33	lw	2,4-6,9				GC-MS	[428]
		O Grönland	2005-08	20	lw	16,6-28,8				GC-MS	[428]
		Norwegen (Spitzbergen)	2005-08	9	lw	26,9-62,7				GC-MS	[428]

^a Anzahl der Individuen; ^b keine Angabe

Tabelle A10: HBCD-Gehalte in Pflanzen.

Spezies	Lat. Name	Probennahmeort	Jahr	n ^a	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
						Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Kiefer (Rinde)	<i>Pinus sp.</i>	China (Peking)	2009/10	15	lw	38-120				HPLC-MS/MS	[371]
Zypresse (Rinde)	<i>Cupressus sp.</i>	China (Peking)	2009/10	15	lw	58				HPLC-MS/MS	[371]
Ginkgo (Rinde)	<i>Ginkgo biloba</i>	China (Peking)	2009/10	15	lw	47-160				HPLC-MS/MS	[371]
Trauerweide (Rinde)	<i>Salix babylonica</i>	China (Peking)	2009/10	15	lw	170-3400				HPLC-MS/MS	[371]
Robinie (Rinde)	<i>Robinia pseudoacacia</i>	China (Peking)	2009/10	15	lw	26-290				HPLC-MS/MS	[371]
Pappel (Rinde)	<i>Populus sp.</i>	China (Peking)	2009/10	15	lw	600				HPLC-MS/MS	[371]

^a Anzahl der Individuen

Tabelle A11: HBCD-Gehalte in Humanproben.

Matrix	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Blutserum	China (Tianjin)	2006	128	lw	n. d.				GC-MS	[55]
	Niederlande	2000	53	lw	n. d.-5,4				GC-MS	[429]
	Norwegen (See Mjøsa)	2004/05	66	lw	n. d.-52				GC-MS	[54]
	Skandinavien (EPS Fabrik)	^a	20	lw	190			153,9 ± 10,6	HPLC-MS/MS	[153]
Blutserum (Nabelschnur)	Niederlande	2001/02	12	lw	0,2-4,3				GC-MS	[202]
		^a	12	lw	<0,16-7,0				GC-MS	[430]
Blutserum (schwangere Frau)	Niederlande	2001/02	69	lw	n. d.-7,4				GC-MS	[202]
		^a	78	lw	<0,16-4,2				GC-MS	[430]
Fettgewebe	Tschechische Republik	2007	98	lw	<0,5-7,5				GC-MS	[203]
	USA (New York)	2003/04	20	lw	<0,0026-2,41				HPLC-MS/MS	[187]
Milch	Ghana	2004/09	67	lw	n. d.-18	n. d.-16	n. d.-0,09	n. d.-2,2	HPLC-MS/MS	[201]
	Indien	2009	55	lw	n. d.-13	n. d.-12,5	n. d.	n. d.-1,41	HPLC-MS/MS	[200]
	Japan (Osaka)	1973	21	lw	n. d.	<0,1	<0,1	<0,2	HPLC-MS/MS	[53]
		1978	32	lw	n. d.	<0,1	<0,1	<0,2	HPLC-MS/MS	[53]
		1983	20	lw	n. d.	<0,1	<0,1	<0,2	HPLC-MS/MS	[53]
		1988	31	lw	0,43	0,43	<0,1	<0,2	HPLC-MS/MS	[53]
		1993	33	lw	2,5	1,1	<0,1	1,4	HPLC-MS/MS	[53]
		1998	35	lw	1,6	1,6	<0,1	<0,2	HPLC-MS/MS	[53]
		1999	30	lw	1,4	1,1	<0,1	0,27	HPLC-MS/MS	[53]
		2000	27	lw	1,8	1,5	<0,1	0,26	HPLC-MS/MS	[53]
		2001	31	lw	1,4	1,1	<0,1	0,33	HPLC-MS/MS	[53]
		2002	28	lw	1	1	<0,1	<0,2	HPLC-MS/MS	[53]
		2003	50	lw	2,0-2,1	1,6-1,9	<0,1	0,24-0,41	HPLC-MS/MS	[53]
		2004	39	lw	1,0-2,3	0,62-1,6	<0,1	0,37-0,72	HPLC-MS/MS	[53]
		2005	41	lw	1,5-1,6	1,5-1,6	<0,1	<0,2	HPLC-MS/MS	[53]
		2006	50	lw	1,4-4,0	1,4	<0,1	<0,2-2,6	HPLC-MS/MS	[53]
	Norwegen	2003	310	lw	0,54-1,3				GC-MS	[82]
		1993-2001	^a	lw	250-2.000				GC-MS	[431]
	Norwegen (Trosnø)	2000-02	10	lw	n. d.-0,13				GC-MS	[199]
	NW Spanien	2006-07	33	lw	n. d.-188	n. d.-71,5	n. d.	n. d.-176	HPLC-MS/MS	[89]

Matrix	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(\pm)- α	(\pm)- β	(\pm)- γ		
Milch	Russland (Arkhangelsk)	2000	23	lw	n. d.-1,67				GC-MS	[199]
	Russland (Murmansk)	2000	14	lw	n. d.-1,15				GC-MS	[199]
	Süd Afrika	2004	14	lw	< 0,23-1,4				GC-ECD	[432]
	Schweden (Stokholm)	1980, '84/85, 1988-2004	14	lw	0,056-0,642				GC-MS	[210]
	Schweden	2000-04	204	lw	n. d.-10				GC-MS	[197]
		2008	18	lw	n. d.-1,5				GC-MS	[376]
	USA (Ontario)	2002/03	8	lw	0,4-19				HPLC-MS	[198]
	USA (Texas)	2002	9	lw	0,2-0,9				HPLC-MS	[198]
	Großbritannien (Birmingham)	^a	34	lw	1,04-22,37	0,75-19,71	0,08-0,75	0,13-2,29	HPLC-MS/MS	[369]
	Vietnam (Bui Dau)	2007	9	lw	0,29-7,6	0,29-7,5	n. d.	n. d.-0,099	HPLC-MS/MS	[433]
	Vietnam (Dong Mai)	2007	4	lw	0,11-0,97	0,11-0,97	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[433]
	Vietnam (Hanoi)	2007	9	lw	0,070-1,4	0,066-1,4	n. d.	n. d.-0,13	HPLC-MS/MS	[433]
	Vietnam (Trang Minh)	2007	11	lw	0,11-3,3	0,12-3,3	n. d.-0,051	n. d.-0,27	HPLC-MS/MS	[433]

^a keine Angabe; ^b Anzahl der Individuen

Tabelle A12: HBCD-Gehalte in Fleisch und Fleischerzeugnissen.

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(\pm)- α	(\pm)- β	(\pm)- γ		
Chili (eingemacht)	USA (Dallas)	2009	10	ww		23			GC-MS	[434]
Ente	Belgien	2004	10	lw	6,06-6,46	n. d.-0,250	n. d.-0,150	6,061	HPLC-MS/MS	[435]
Fleisch (versch. Sorten)	Schweden	2005	16	fw	n. d.-0,01				GC-MS	[436]
Fleisch-Erzeugnisse	England	2004	^a	ww		0,11	<0,039	<0,054	HPLC-MS/MS	[140]
Geflügel	England	2004	^a	ww		<0,094	<0,040	<0,054	HPLC-MS/MS	[140]
Hamburger	USA (Dallas)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
Hase	Belgien	2004	10	lw	0,61-1,01	n. d.-0,250	n. d.-0,150	0,614	HPLC-MS/MS	[435]
Huhn (Fettgewebe)	Schweden	1999	^a	lw	6,5				GC-ECD	[113]
Huhn	Belgien	2004	10	lw	0,80-1,20	n. d.-0,250	n. d.-0,150	0,801	HPLC-MS/MS	[435]
	Rumänien	2007	9	ww	0,04				GC-MS	[165]
Hühnchenbrust	USA (Dallas)	2009	10	ww		98			GC-MS	[434]
Innereien	England	2004	^a	ww		<0,11	<0,055	<0,060	HPLC-MS/MS	[140]
Kalb (Fettgewebe)	Schweden	1999	^a	lw	<1				GC-ECD	[113]
Kalbfleisch	Belgien	2004	10	lw	0,150-0,7	n. d.-0,250	n. d.-0,150	0,150-0,3	HPLC-MS/MS	[435]
Karkasse	England	2004	^a	ww		0,15	<0,043	<0,060	HPLC-MS/MS	[140]
Lamm (Fettgewebe)	Schweden	1999	^a	lw	1,4				GC-ECD	[113]
Leberpastete	Norwegen	2002-06	^a	ww		0,019	0,003-0,011	0,030-0,041	HPLC-MS/MS	[208]
Leber, Leberprodukte	Belgien	2004	10	lw	n. d.-0,550	n. d.-0,250	n. d.-0,150	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Pferdefleisch	Belgien	2004	10	lw	0,150-0,7	n. d.-0,250	n. d.-0,150	0,150-0,3	HPLC-MS/MS	[435]
Pute (geschnitten)	USA (Dallas)	2009	10	ww		124			GC-MS	[434]
Rind (Fettgewebe)	Schweden	1999	^a	lw	4,1				GC-ECD	[113]
Rindfleisch	Belgien	2004	10	lw	11,12	0,687	0,729	9,703	HPLC-MS/MS	[435]
	Norwegen	2002-06	^a	ww		n. d.-0,020	n. d.-0,015	n. d.-0,025	HPLC-MS/MS	[208]
	Rumänien	2007	2	ww	0,25				GC-MS	[165]
Roastbeef	USA (Dallas)	2009	10	ww		188			GC-MS	[434]
Salami	Rumänien	2007	7	ww	0,25				GC-MS	[165]

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹			Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ	
Schafffleisch	Belgien	2004	10	lw	0,33-0,73	n. d.-0,250	n. d.-0,150	0,329	HPLC-MS/MS [435]
	Norwegen	2002-06	^a	ww		n. d.-0,050	n. d.-0,040	n. d.-0,060	HPLC-MS/MS [208]
Schinken	USA (Dallas)	2009	10	ww		24			GC-MS [434]
Schwein (Fettgewebe)	Schweden	1999	^a	lw	1				GC-ECD [113]
Schweinefleisch	Belgien	2004	10	lw	1,49-1,64	0,896	n. d.-0,150	0,592	HPLC-MS/MS [435]
	Norwegen	2002-06	^a	ww		0,021	n. d.-0,010	0,007	HPLC-MS/MS [208]
	Rumänien	2007	13	ww	0,25				GC-MS [165]
Schweine-Salami	Rumänien	2007	4	ww	0,25				GC-MS [165]
Speck	USA (Dallas)	2009	10	ww		192			GC-MS [434]
Truthahn	Belgien	2004	10	lw	14,652	9,52	2,207	2,924	HPLC-MS/MS [435]
Wild	Belgien	2004	18	lw	0,58-0,98	n. d.-0,250	n. d.-0,150	0,581	HPLC-MS/MS [435]
Würstchen	USA (Dallas)	2009	10	ww		151			GC-MS [434]
	Norwegen	2002-06	^a	ww		n. d.-0,010	n. d.-0,010	n. d.-0,010	HPLC-MS/MS [208]

^a keine Angabe; ^b Anzahl der unabhängigen Proben

Tabelle A13: HBCD-Gehalte in Fisch und Fischerzeugnissen.

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹			Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ	
Aal	Deutschland (Bayern)	^a	^a	lw	40				GC-MS [80]
Aal	Japan (Supermarkt)	2004-08	27	ww	0,05-36,9	0,05-17,7	<0,01-0,4	<0,02-18,8	HPLC-MS/MS [206]
Atlantischer Lachs (Filet)	Norwegen (Fischfarm)	2003	16-25	ww	<0,1				GC-MS [392]
	Schottland (Fischfarm)	2003	16-25	ww	1,3				GC-MS [392]
Atlantischer Lachs (Filet) gezüchtet	Norwegen	2004	17	ww	0,8-1,8				GC-MS [393]
Barrakuda	Japan (Supermarkt)	2004	10	ww	1,01-5,29	0,73-3,85	<0,01	1,45	HPLC-MS/MS [206]
Butterfisch	Japan (Supermarkt)	2005	7	ww	0,00	<0,02	<0,01	<0,02	HPLC-MS/MS [206]
Buntbarsch	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		179,6			GC-MS [434]

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Dorsch	Belgien	2004	10	fw	0,005	0,002	0,76	0,003	HPLC-MS/MS	[435]
Dorsch (Leber)	Norwegen	2002-06	^a	ww		3,609			HPLC-MS/MS	[208]
Dorsch (Leberöl)	Norwegen	2002-06	^a	ww		n. d.-5,00			HPLC-MS/MS	[208]
Dorsch (Rogen)	Norwegen	2002-06	^a	ww		n. d.-0,049	n. d.-0,027	n. d.-0,044	HPLC-MS/MS	[208]
Dorsch (Rogen-Leber-Pastete)	Norwegen	2002-06	^a	ww		0,483	0,063-0,109	n. d.-0,157	HPLC-MS/MS	[208]
Dorschleberöl (Nordsee)	Japan (Einzelhändler)	2004	3	lw	4,0-6,2	3,7-5,0	<0,2-0,4	<0,5-1,3	HPLC-MS/MS	[99]
	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
Drachenkopffarten	Japan (Supermarkt)	2004/05	15	ww	0,00-0,62	<0,02-0,2	<0,01	<0,02-0,42	HPLC-MS/MS	[206]
Echter Bonito	Japan (Supermarkt)	2011	2	ww	0,02-0,04	0,02-0,04	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[437]
Europäischer Aal (Filet)	Italien (Fischfarm)	2003	16-25	ww	<0,4				GC-MS	[392]
	Niederlande (Fischfarm)	2003	16-25	ww	<0,5				GC-MS	[392]
Fisch (div. Sorten)	Schweden	1999	^a	lw	48				GC-ECD	[113]
	England	2004	^a	ww		n. d.	<0,049	<0,068	HPLC-MS/MS	[140]
	Schweden	2005	13	fw	0,11-0,63				GC-MS	[436]
Fischfeinkostsalat	Belgien	2004	9	fw	n. d.-0,550	n. d.-0,250	n. d.-0,150	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Fischöl	Atlantik/Pazifik	^a	25	fw	n. d.-26,8	n. d.-6,58	n. d.-3,95	n. d.-12,67	HPLC-MS/MS	[347]
	Norwegen	2002-06	^a	ww		n. d.-5,00			HPLC-MS/MS	[208]
Fischstäbchen (gefroren)	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		113			GC-MS	[434]
Forelle (gezüchtet)	Norwegen	2002-06	^a	ww		0,653	0,020	0,053	HPLC-MS/MS	[208]
Forellenbarsch	S China (Supermarkt)	2004/05	3	ww	n. d.-17,4	n. d.-4,7	n. d.	n. d.-12,7	HPLC-MS/MS	[438]
Graskarpfen	S China (Supermarkt)	2004/05	3	ww	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[438]
Grönland Heilbutt	Japan (Supermarkt)	2011	1	ww	0,14	0,09	n. d.	0,05	HPLC-MS/MS	[437]
Große Bernsteinmakrele	Japan (Supermarkt)	2011	1	ww	7,04	6,68	n. d.	0,36	HPLC-MS/MS	[437]
Haarschwanz	S China (Supermarkt)	2004/05	5	ww	n. d.-7,6	n. d.-7,6	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[438]
Haileberöl	Japan (Einzelhändler)	2004	3	lw	44-45	22-25	<0,2-0,7	19-21	HPLC-MS/MS	[99]
Haileberöl	Japan (Einzelhändler)	2004	6	lw	n. d.-7,3	<0,2-4,0	<0,2-1,4	<0,5-1,9	HPLC-MS/MS	[99]
Haileberöl (Neuseeland)	Japan (Einzelhändler)	2004	3	lw	n. d.	<0,2	<0,2	<0,5	HPLC-MS/MS	[99]

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Hering	Belgien	2004	8	fw	0,47-0,49	0,368	n. d.-0,150	0,088	HPLC-MS/MS	[435]
	Norwegen	2002-06	10	ww		0,334-0,584			HPLC-MS/MS	[208]
Heringsarten	Japan (Supermarkt)	2004-07	274	ww	0,09-77,3	0,08-18,3	<0,01-2,44	<0,02-56,6	HPLC-MS/MS	[206]
Japanische Makrele	Japan (Supermarkt)	2011	3	ww	0,58-21,9	0,31-9,67	n. d.	0,27-12,2	HPLC-MS/MS	[437]
Japanische Meerbrasse	Japan (Supermarkt)	2003-04	28	ww	2,18-25,9	1,15-9,06	<0,01-0,36	1,03-16,5	HPLC-MS/MS	[206]
Japanische Sardine	Japan (Supermarkt)	2011	1	ww	1,12	0,83	n. d.	0,29	HPLC-MS/MS	[437]
Katzenwels (Filet)	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		133			GC-MS	[434]
Kaviar	Norwegen	2002-06	^a	ww		n. d.-0,015	n. d.-0,100	n. d.-0,140	HPLC-MS/MS	[208]
Krabbe	Norwegen	2002-06	6	ww		n. d.-0,080	n. d.-0,070	n. d.-0,130	HPLC-MS/MS	[208]
Krustentiere	Belgien	2004	12	fw	0,03	0,022	0,003	0,006	HPLC-MS/MS	[435]
Kugelfischöl	Japan (Einzelhändler)	2004	1	lw	11	9,5	<0,2	1,5	HPLC-MS/MS	[99]
Kurznasen-Makrele	S China (Supermarkt)	2004/05	29	ww	n. d.-194	n. d.-70,1	n. d.-15,0	n. d.-86,6	HPLC-MS/MS	[438]
Lachs	Belgien	2004	14	fw	0,27-0,29	0,237	n. d.-0,150	0,0346	HPLC-MS/MS	[435]
	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		352			GC-MS	[434]
Lachs (Dosenkonserve)	Irland	2007	1	ww	<0,10	<0,073	<0,014	<0,016	HPLC-MS/MS	[439]
Lachs (geräuchert)	Irland	2007	1	ww	0,68	0,55	0,044	<0,084	HPLC-MS/MS	[439]
	Norwegen	2002-06	^a	ww		0,241	n. d.-0,042	0,0007-0,076	HPLC-MS/MS	[208]
Lachs (gezüchtet)	Irland	2007	4	ww	1,08-2,67	0,88-2,30	<0,043-0,10	<0,016-0,27	HPLC-MS/MS	[439]
	Schweden	1996	^a	lw	6,7				GC-ECD	[113]
	Norwegen	2002-06	20	ww		0,128-0,545			HPLC-MS/MS	[208]
Lachs (wild)	Schweden	1999	^a	lw	51				GC-ECD	[113]
Lateolabrax	Japan (Supermarkt)	2011	1	ww	6,66	5,50	n. d.	1,16	HPLC-MS/MS	[437]
Makrele	Belgien	2004	8	fw	0,20-0,22	0,128	0,014	0,064	HPLC-MS/MS	[435]
	Norwegen	2002-06	5	ww		0,493-0,827	0,033-0,078	0,040-0,135	HPLC-MS/MS	[208]
	Japan (Supermarkt)	2011	2	ww	0,54-9,37	0,48-6,08	n. d.	0,06-3,29	HPLC-MS/MS	[437]
Makrele (Dosenkonserve)	Irland	2007	1	ww	1,01	0,87	<0,014	0,13	HPLC-MS/MS	[439]
Makrele in Tomatensoße	Norwegen	2002-06	^a	ww		0,534	n. d.-0,094	0,009-0,153	HPLC-MS/MS	[208]

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Makrele	Japan (Supermarkt)	2004/07	20	ww	0,13-26,2	0,13-15,7	<0,01-0,25	<0,02-19,4	HPLC-MS/MS	[206]
Mandarin Fisch	S China (Supermarkt)	2004/05	3	ww	n. d.-12,3	n. d.-12,3	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[438]
Marmor Karpfen	S China (Supermarkt)	2004/05	3	ww	n. d.-5,8	n. d.-5,8	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[438]
Meerbrasse	Japan (Supermarkt)	2011	2	ww	n. d.-0,03	n. d.-0,03	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[437]
Neunaugenröl	Japan (Einzelhändler)	2004	2	lw	2,1-9,3	2,1-4,5	<0,2-1,8	<0,5-3,0	HPLC-MS/MS	[99]
Nordpazifische Blauflossen-Thunfisch	Japan (Supermarkt)	2011	1	ww	3,85	2,48	n. d.	1,37	HPLC-MS/MS	[437]
Octopus	Japan (Supermarkt)	2004/07	9	ww	0,00-0,93	<0,02-0,25	<0,01-0,04	<0,02-0,65	HPLC-MS/MS	[206]
Pazifischer Dorsch	Japan (Supermarkt)	2011	1	ww	0,03	0,03	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[437]
<i>Prosthiosomum trilineatum</i>	Japan (Supermarkt)	2011	1	ww	0,03	0,03	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[437]
Roter Trommler	S China (Supermarkt)	2004/05	3	ww	n. d.-5,6	n. d.-5,6	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[438]
Riesenscheibenbrasse	S China (Supermarkt)	2004/05	3	ww	n. d.-23,2	n. d.-7,7	n. d.-1,5	n. d.-15,5	HPLC-MS/MS	[438]
Robbenöl (Kanada)	Japan (Einzelhändler)	2004	2	lw	0,4-0,5	0,4-0,5	<0,2	<0,5	HPLC-MS/MS	[99]
Sardine	Belgien	2004	7	fw	0,82-0,84	0,72	n. d.-0,150	0,101	HPLC-MS/MS	[435]
	Norwegen	2002-06	^a	ww		0,622	n. d.-0,129	0,011-0,206	HPLC-MS/MS	[208]
Sardine (eingelegt)	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		593			GC-MS	[434]
Sardinenröl	Japan (Einzelhändler)	2004	1	lw	67	43	1,1	23	HPLC-MS/MS	[99]
Scheinbutte	Japan (Supermarkt)	2011	1	ww	9,59	8,68	n. d.	0,91	HPLC-MS/MS	[437]
Scheinschnapper	S China (Supermarkt)	2004/05	3	ww	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[438]
Schlangenkopffisch	S China (Supermarkt)	2004/05	2	ww	n. d.-6,1	n. d.-6,1	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[438]
Schnapper	S China (Supermarkt)	2004/05	3	ww	n. d.-19,5	n. d.-15,2	n. d.-4,3	n. d.	HPLC-MS/MS	[438]
Schnecken	Belgien	2004	10	fw	0,583	0,449	0,065	0,068	HPLC-MS/MS	[435]
Scholle	Japan (Supermarkt)	2011	1	ww	0,07	n. d.	n. d.	0,07	HPLC-MS/MS	[437]
Schollenarten	Japan (Supermarkt)	2004-07	14	ww	0,00-0,04	<0,02-0,04	<0,01	<0,02	HPLC-MS/MS	[206]
Seeschlangenöl	Japan (Einzelhändler)	2004	1	lw	5,1	2,1	1,3	1,7	HPLC-MS/MS	[99]
Seezunge	Japan (Supermarkt)	2011	1	ww	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	HPLC-MS/MS	[437]
Shrimps	Norwegen	2002-06	^a	ww		0,005-0,012	n. d.-0,009	n. d.-0,011	HPLC-MS/MS	[208]
	Japan (Supermarkt)	2004-07	108	ww	n. d.				HPLC-MS/MS	[206]

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Stachelmakrele	Japan (Supermarkt)	2004/07	23	ww	0,12-4,88	0,10-2,78	<0,01	<0,02-1,1	HPLC-MS/MS	[206]
		2011	1	ww	0,71	0,58	n. d.	0,13	HPLC-MS/MS	[437]
Thunfisch	Belgien	2004	10	fw	0,02	0,007	0,003	0,01	HPLC-MS/MS	[435]
	Irland	2007	1	ww	0,31	0,28	<0,014	<0,016	HPLC-MS/MS	[439]
Thunfisch (Dosenkonserve)	Irland	2007	2	ww	<0,10	<0,073	<0,014	<0,016	HPLC-MS/MS	[439]
Thunfisch (eingelegt)	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
Wittling	Deutschland (Bayern)	^a	^a	lw	60-70				GC-MS	[80]

^a keine Angabe; ^b Anzahl der unabhängigen Proben

Tabelle A14: HBCD-Gehalte in sonstigen Lebensmitteln tierischen Ursprungs.

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Butter	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
	Rumänien	2007	3	ww	0,25				GC-MS	[165]
Eigelb	W Kanada	2005-06	40	lw	n. d.-1,110	n. d.-1,060	n. d.-34,8	n. d.-15,8	HPLC-MS/MS	[205]
		2006	40	lw	n. d.-1,59	n. d.-1,52	n. d.-0,112	n. d.-1,23	HPLC-MS/MS	[205]
		2006	40	lw	n. d.-28,4	n. d.-1,60	n. d.	n. d.-28,1	HPLC-MS/MS	[205]
Eiscreme	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
	Norwegen	2002-06	^a	ww		n. d.-0,010	n. d.-0,010	n. d.-0,010	HPLC-MS/MS	[208]
Hühnerlei (Legebatterie)	Belgien	2004	10	lw	n. d.-0,550	n. d.-0,250	n. d.-0,150	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Hühnerlei (freiland)	Belgien	2004	10	lw	n. d.-0,550	n. d.-0,250	n. d.-0,150	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Hühnerlei (Bio)	Belgien	2004	10	lw	n. d.-0,550	n. d.-0,250	n. d.-0,150	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Hühnerlei	China	2009	60	lw	n. d.-0,74	n. d.-0,47	n. d.-0,12	n. d.-0,15	HPLC-MS/MS	[371]
Hühnerlei (freiland)	China	2010	41	lw	44,2-350				GC-MS	[440]
Hühnerlei	England	2004	^a	ww		<0,19	<0,078	<0,11	HPLC-MS/MS	[140]
	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
	Norwegen	2002-06	^a	ww		0,095-0,116	0,011-0,040	0,008-0,053	HPLC-MS/MS	[208]

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Hühnerlei (freiland)	Kanada	2005/06	30	lw	n. d.-2,85	n. d.-2,85	n. d.-0,959	n. d.-0,645	HPLC-MS/MS	[441]
Hühnerlei (hoher Ω-3-Fettsäure-Anteil)	Kanada	2005/06	30	lw	n. d.-1,6	n. d.-1,6	n. d.	n. d.-1,13	HPLC-MS/MS	[441]
Hühnerlei (Bio)	Kanada	2005/06	61	lw	n. d.-71,9	n. d.-70,7	n. d.-0,524	n. d.-7,05	HPLC-MS/MS	[441]
Hühnerlei	Belgien (Privathaushalte)	2006/07	15	lw		2,85-6,55			GC-MS	[388]
	Rumänien	2007	6	ww	0,04				GC-MS	[165]
	Deutschland (Bayern)	^a	^a	lw	30-2.000				GC-MS	[80]
	Schweden	2005	1	fw	n. d.-0,01				GC-MS	[436]
Hühnereigelb	Kanada	2005/06	41	lw	n. d.-28,4	n. d.-0,307	n. d.-0,022	n. d.-28,1	HPLC-MS/MS	[441]
	Schweden	1999	^a	lw	9,4				GC-ECD	[113]
Joghurt (gefroren)	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
Joghurt	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
Käse (Belgien)	Belgien	2004	23	lw	0,80-1,2	0,801	n. d.-0,250	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Käse (Frankreich)	Belgien	2004	23	lw	3,96-4,36	3,955	n. d.-0,250	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Käse (Holland)	Belgien	2004	10	lw	0,79-1,19	0,792	n. d.-0,250	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Käse (Italien)	Belgien	2004	17	lw	3,29-3,49	3,29	n. d.-0,250	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Käse (Ziege)	Belgien	2004	10	lw	2,62-3,02	2,615	n. d.-0,250	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Käse	Rumänien	2007	13	ww	0,25				GC-MS	[165]
Käse (amerikanisch)	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
Käse (div. Sorten)	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
Käse-Creme	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
Käse (Schaf)	Rumänien	2007	10	ww	0,25				GC-MS	[165]
Milch	Belgien	2004	19	lw	n. d.-0,550	n. d.-0,250	n. d.-0,150	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Milch (Bio)	Belgien	2004	8	lw	n. d.-0,550	n. d.-0,250	n. d.-0,150	n. d.-0,150	HPLC-MS/MS	[435]
Milch	Schweden	1999	^a	lw	1,8				GC-ECD	[113]
	England	2004	^a	ww		<0,28	<0,12	<0,16	HPLC-MS/MS	[140]
	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹			Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ	
Milch-Creme	Rumänien	2007	3	ww	0,25				GC-MS [165]
Milch und Milchprodukte	Schweden	2005	16	fw	n. d.-0,01				GC-MS [436]
Möweneier	Norwegen	1995	^a	ww		6,62			HPLC-MS/MS [208]

^a keine Angabe; ^b Anzahl der unabhängigen Proben

Tabelle A15: HBCD-Gehalte in Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs.

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹			Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ	
Anderes Gemüse	England	2004	^a	ww		<0,25	<0,11	<0,15	HPLC-MS/MS [140]
Apfel	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS [434]
Banane	Norwegen	2002-06	^a	ww		n. d.-0,010	n. d.-0,010	n. d.-0,020	HPLC-MS/MS [208]
Biskuit	Norwegen	2002-06	^a	ww		0,009-0,071	0,008-0,052	0,015-0,090	HPLC-MS/MS [208]
Brot	England	2004	^a	ww		<0,063	<0,026	<0,036	HPLC-MS/MS [140]
Croissant	Belgien	2004	20	lw	1,30-1,50	n. d.-0,250	n. d.-0,150	1,301	HPLC-MS/MS [435]
Erdnussbutter	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		300			GC-MS [434]
Frucht (verschieden Arten)	England	2004	^a	ww		n. d.	0,32	<0,14	HPLC-MS/MS [140]
Frucht-Erzeugnisse	England	2004	^a	ww		0,095	0,058	0,12	HPLC-MS/MS [140]
Gemüse (eingemacht)	England	2004	^a	ww		0,13	<0,021	0,086	HPLC-MS/MS [140]
Getreide	England	2004	^a	ww		<0,063	<0,026	<0,036	HPLC-MS/MS [140]
	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS [434]
Grünes Gemüse	England	2004	^a	ww		0,21	0,085	<0,061	HPLC-MS/MS [140]
Kartoffel	England	2004	^a	ww		0,057	0,032	n. d.	HPLC-MS/MS [140]
	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS [434]
Margarine	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS [434]
Nahrungsergänzungsmittel	England	2004	^a	ww		<0,12	<0,050	<0,070	HPLC-MS/MS [140]
	Norwegen	2002-06	^a	ww		0,018-0,223	0,016-0,171	0,015-0,268	HPLC-MS/MS [208]
Nuss	England	2004	^a	ww		0,17	<0,065	<0,090	HPLC-MS/MS [140]

Lebensmittel	Probennahmeort	Jahr	n ^b	lw/ ww	HBCD-Gehalt in ng g ⁻¹				Detektions- methode	Ref.
					Σ HBCD	(±)-α	(±)-β	(±)-γ		
Öle und Fette	England	2004	^a	ww		<0,16	<0,065	<0,090	HPLC-MS/MS	[140]
Olivenöl	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
Pflanzenöl	Belgien	2004	25	lw	0,150-0,7	n. d.-0,250	n. d.-0,150	0,150-0,3	HPLC-MS/MS	[435]
	Norwegen	2002-06	^a	ww		n. d.-0,125	n. d.-0,110	n. d.-0,145	HPLC-MS/MS	[208]
	Rumänien	2007	2	ww		0,25				[165]
Rapsöl	USA (Dallas, Supermarkt)	2009	10	ww		n. d.			GC-MS	[434]
Reis	S China	2005-08	3	dw	19,3	6,2	5,5	7,1	HPLC-MS/MS	[141]
Zucker und Eingemachtes	England	2004	^a	ww		0,055	0,03	0,065	HPLC-MS/MS	[140]

^a keine Angabe; ^b Anzahl der unabhängigen Proben

Anhang B

Tabelle B1: Kalibrierniveaus der nativen und $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD-Isomere (ng g^{-1}) zur Überprüfung der Linearität.

Kalibrierpunkt	(\pm)- α	$^{13}\text{C}_{12}$ -(\pm)- α	(\pm)- β	$^{13}\text{C}_{12}$ -(\pm)- β	(\pm)- γ	$^{13}\text{C}_{12}$ -(\pm)- γ
1	0,006	21,90	0,006	21,14	0,006	21,81
2	0,021	21,97	0,021	21,21	0,021	21,88
3	0,044	22,19	0,044	21,42	0,044	22,10
4	0,096	22,33	0,096	21,56	0,096	22,24
5	0,241	21,69	0,241	20,94	0,241	21,60
6	0,505	22,85	0,505	22,06	0,504	22,75
7	0,965	21,95	0,964	21,19	0,963	21,86
8	2,076	21,05	2,072	21,93	2,089	21,76
9	4,063	22,21	4,055	23,13	4,088	22,96
10	9,534	20,89	9,530	21,76	9,518	21,59
11	24,45	20,88	24,44	21,74	24,41	21,58
12	55,04	20,25	55,01	21,09	54,95	20,93
13	75,74	20,25	75,70	21,09	75,61	20,93
14	104,98	20,68	104,93	21,53	104,80	21,37
15	202,35	20,57	202,26	21,42	202,02	21,26

Tabelle B2: Gehalte (ng g^{-1}) von nativen und $^{13}\text{C}_{12}$ -HBCD-Isomeren der Kalibrierlösungen zur Ermittlung des Arbeitsbereiches.

Kalibrierpunkte	(\pm)- α	$^{13}\text{C}_{12}$ -(\pm)- α	(\pm)- β	$^{13}\text{C}_{12}$ -(\pm)- β	(\pm)- γ	$^{13}\text{C}_{12}$ -(\pm)- γ
1	0,026	20,50	0,026	21,35	0,026	21,19
2	0,242	20,54	0,241	21,39	0,243	21,23
3	0,504	20,74	0,503	21,60	0,507	21,44
4	1,053	21,21	1,051	22,09	1,059	21,93
5	2,096	20,49	2,092	21,34	2,109	21,18
6	3,891	20,70	3,883	21,56	3,915	21,40
7	7,563	20,85	7,548	21,72	7,609	21,55
8	22,23	20,07	22,22	20,90	22,19	20,74
9	34,41	21,58	34,40	22,47	34,36	22,30
10	68,40	20,99	68,37	21,86	68,28	21,70
11	102,41	20,56	102,36	21,41	102,23	21,25
12	132,07	20,49	132,01	21,34	131,85	21,18

Tabelle B3: $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der entfetteten Silbermöweneiprüben der Inseln Trischen, Mellum und Heuwiese (bezogen auf die internationalen Vergleichsstandards VPDB bzw. AIR).

Jahr	Trischen		Mellum		Heuwiese	
	$\delta^{15}\text{N}$ (‰ _{AIR}) ^a	$\delta^{13}\text{C}$ (‰ _{VPDB}) ^b	$\delta^{15}\text{N}$ (‰ _{AIR}) ^a	$\delta^{13}\text{C}$ (‰ _{VPDB}) ^b	$\delta^{15}\text{N}$ (‰ _{AIR}) ^a	$\delta^{13}\text{C}$ (‰ _{VPDB}) ^b
1988	19,14	-17,14	17,17	-18,21	--	--
1991	18,08	-16,50	16,28	-17,90	--	--
1994	18,35	-16,49	16,15	-17,91	--	--
1996	15,81	-18,40	16,21	-18,74	--	--
1998/99	16,80	-18,16	14,19	-20,00	13,72	-21,49
2000	17,06	-18,59	15,66	-18,89	12,95	-21,78
2002	16,21	-18,65	15,55	-19,15	13,04	-18,11
2004	16,47	-18,19	13,51	-20,24	12,77	-21,77
2006	16,83	-18,52	13,02	-20,33	14,14	-21,17
2008	16,20	-18,70	14,89	-19,88	14,07	-21,57

^a Messunsicherheit $U(\delta^{13}\text{C}) = 0,05$ ‰; ^b Messunsicherheit $U(\delta^{15}\text{N}) = 0,15$ ‰

Tabelle B4: $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der entfetteten marinen Filetproben des Eikelandsfjordes (bezogen auf die internationalen Vergleichsstandards VPDB bzw. AIR).

Spezies ^a	$\delta^{15}\text{N}$ (‰ _{AIR}) ^b	$\delta^{13}\text{C}$ (‰ _{VPDB}) ^b
LFg	11,48	-20,28
LFr	11,95	-19,79
K	12,28	-20,37
StS	5,98	-16,74
Ma	11,43	23,69
Mm	4,85	-20,72
Nr	12,36	-17,59
Sl	12,84	-19,90
W	13,09	-19,72
Zk	11,22	-18,94

^a Abkürzungen der Spezies sind in Tabelle 33 ersichtlich

^b erweiterte Messunsicherheit $U(\delta^{13}\text{C}) = 0,2$ ‰;

^c erweiterte Messunsicherheit $U(\delta^{15}\text{N}) = 1,0$ ‰

Tabelle B5: Kristalldaten der von Smith *et al.* synthetisierten TBCD-Stereoisomere (nach [22]).

TBCD-Stereoisomer				
Summenformel	C ₁₂ H ₁₈ Br ₄			
Name nach [22]	TBCD-4	TBCD-5	TBCD-6	TBCD-7
T (K)	120	219	140	120
Kristallsystem	monoklin	orthorhombisch	monoklin	monoklin
Raumgruppe	Cc	Pbca	P2 ₁ /n	P2 ₁ /a
Zellparameter				
a (Å)	6,5740(2)	17,163(2)	11,4559(14)	9,9321(10)
b (Å)	31,5300(6)	12,517(1)	7,4771(13)	13,1468(5)
c (Å)	7,6670(4)	14,250(1)	17,7504(8)	11,9463(5)
β (°)	108,030(6)	90	91,342(7)	109,373(8)
VEZ ^a (Å ³)	1511,16(10)	3061,32(7)	1520,0(3)	1471,6(2)
Z ^b	4	8	4	4
μ ^c (mm ⁻¹)	10,627	10,395	10,565	10,913
R-Werte: R1	0,0396	0,068	0,0442	0,0496
wR2	0,1050	0,087	0,1089	0,1349

^a Volumen der Elementarzelle, ^b Formeleinheiten pro Elementarzelle, ^c linearer Absorptionskoeffizient

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Susanne Esslinger, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und nur mit den angegebenen erlaubten Hilfsmitteln in der Arbeitsgruppe 1.21 der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) angefertigt habe.

Berlin, den 24. Mai 2013